

F. ENT COOPERATION TREA

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

GULDE, Klaus, W.
Gulde Hengelhaupt Ziebig
Schützenstrasse 15-17
D-10117 Berlin
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 25 September 2000 (25.09.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P46497PC-Gu	
International application No. PCT/EP99/09747	International filing date (day/month/year) 22 November 1999 (22.11.99)

1. The following indications appeared on record concerning:	
<input checked="" type="checkbox"/> the applicant	<input type="checkbox"/> the inventor <input type="checkbox"/> the agent <input type="checkbox"/> the common representative
Name and Address SEPIATEC GMBH Herrmannswerder Haus 17 D-14473 Potsdam Germany	State of Nationality **
	State of Residence DE
	Telephone No.
	Facsimile No.
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:	
<input type="checkbox"/> the person <input type="checkbox"/> the name <input checked="" type="checkbox"/> the address <input type="checkbox"/> the nationality <input type="checkbox"/> the residence	
Name and Address SEPIATEC GMBH Gross-Berliner Damm 71 D-12487 Berlin Germany	State of Nationality **
	State of Residence DE
	Telephone No.
	Facsimile No.
3. Further observations, if necessary: The indication of nationality of the applicant is still missing.	
4. A copy of this notification has been sent to:	
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer N. Lindner
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38



F INT COOPERATION TREA

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

GULDE, Klaus, W.
Gulde Hengelhaupt Ziebig
Schützenstrasse 15-17
D-10117 Berlin
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 23 August 2000 (23.08.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P46497PC-Gu	
International application No. PCT/EP99/09747	International filing date (day/month/year) 22 November 1999 (22.11.99)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant
 ☐ the inventor
 ☐ the agent
 ☐ the common representative

Name and Address

ANALYTICON AG
Biotechnologie Pharmazie
Tegeler Weg 33
D-10589 Berlin
Germany

State of Nationality

DE

State of Residence

DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person
 ☐ the name
 ☒ the address
 ☐ the nationality
 ☐ the residence

Name and Address

SEPIATEC GMBH
Herrmannswerder Haus 17
D-14473 Potsdam
Germany

State of Nationality

**

State of Residence

DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
 ☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority
 ☒ the elected Offices concerned
☒ the International Preliminary Examining Authority
 ☐ other:
The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Celine Faust

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

P ENT COOPERATION TREA

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
 United States Patent and Trademark
 Office
 Box PCT
 Washington, D.C.20231
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 26 July 2000 (26.07.00)	
International application No. PCT/EP99/09747	Applicant's or agent's file reference P46497PC-Gu
International filing date (day/month/year) 22 November 1999 (22.11.99)	Priority date (day/month/year) 20 November 1998 (20.11.98)
Applicant MÜLLER-KUHRT, Lutz et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

20 June 2000 (20.06.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer F. Baechler Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



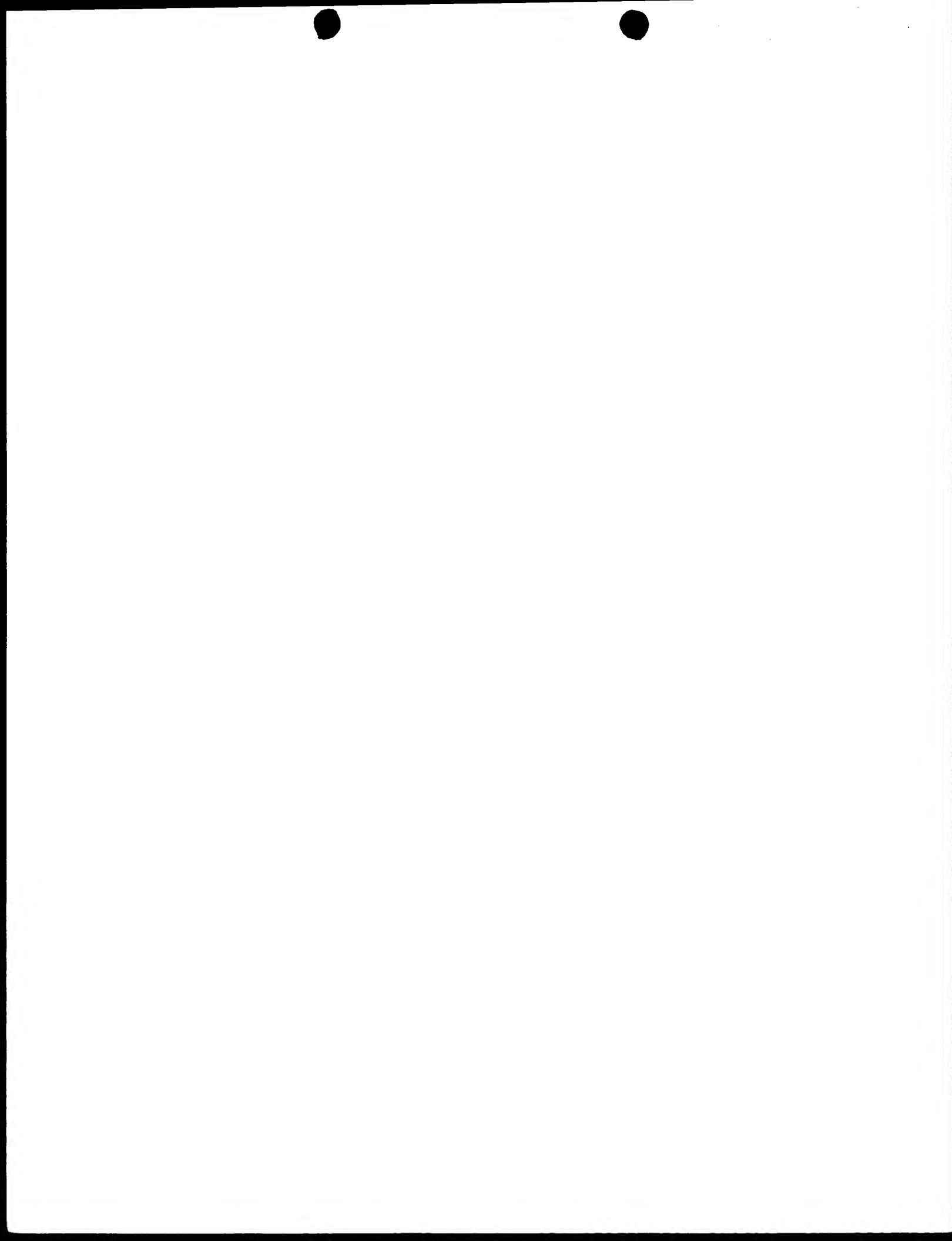
Amended Page 1 of the Original German Document

10125-63

APPARATUS AND METHOD FOR THE PARALLEL, LIQUID CHROMATOGRAPHIC SEPARATION OF SUBSTANCES

The invention relates to an apparatus and to a method for the liquid chromatographic separation of substances under pressure, in accordance with the introductory portions of claims 1 and 16.

So-called chromatographic separation installations are used for the preparative and analytical separation of substance mixtures. Essentially, these installations consist in each case of a conveying unit (pump), an injection system, the actual separating device (column) and a detector. The separation of mixtures of organic components is dominated at the present time by high-pressure liquid chromatography. The reasons lie essentially in the wide range of applications and in the universality, as well as in the robustness and user friendliness of the method. It is possible to separate and detect practically any mixture of organic substances by means of high-pressure liquid chromatography. Aside from the analysis of individual samples, for which it must be possible to vary the separation parameters optimally and appropriately, there is an increasing tendency in many areas to analyze and purify large series of samples under exactly the same conditions.

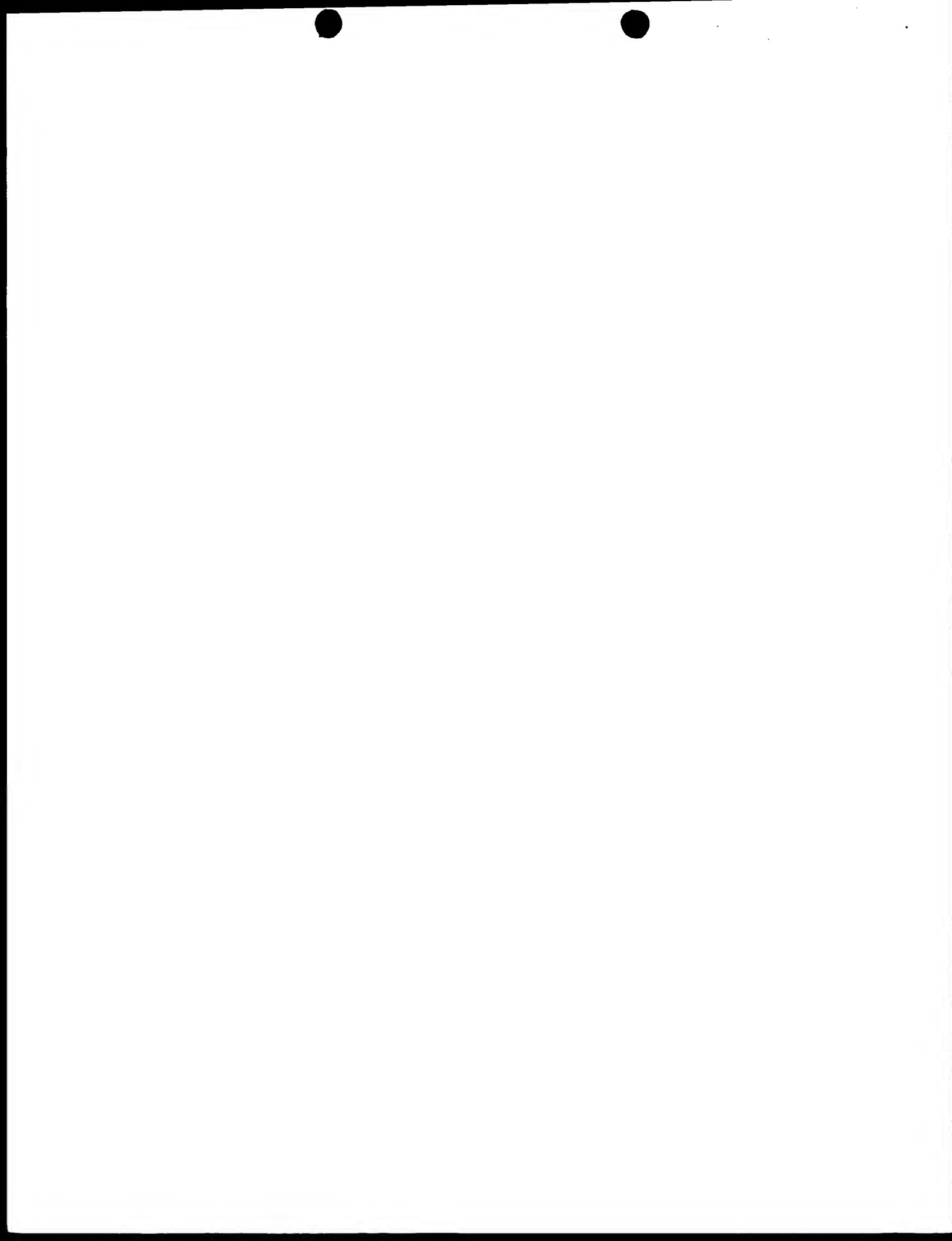


Present parallelized separation installations require a pumping device per separating equipment (column). As a rule, however, this is uneconomic. Moreover, the individual conveying lines of such multi-channel installations exhibit retention times, which deviate from one another.

High pressure chromatographic installations are known, for which, with a total of seven pumps, one column carousel with sixteen columns, four individual detectors and one fraction collector, a maximum of four samples can be processed in parallel (Laborpraxis, December 1967, pp 61-63). In addition, because of their expensive construction in comparison to the small number of samples, which can be processed, it is not possible to work economically.

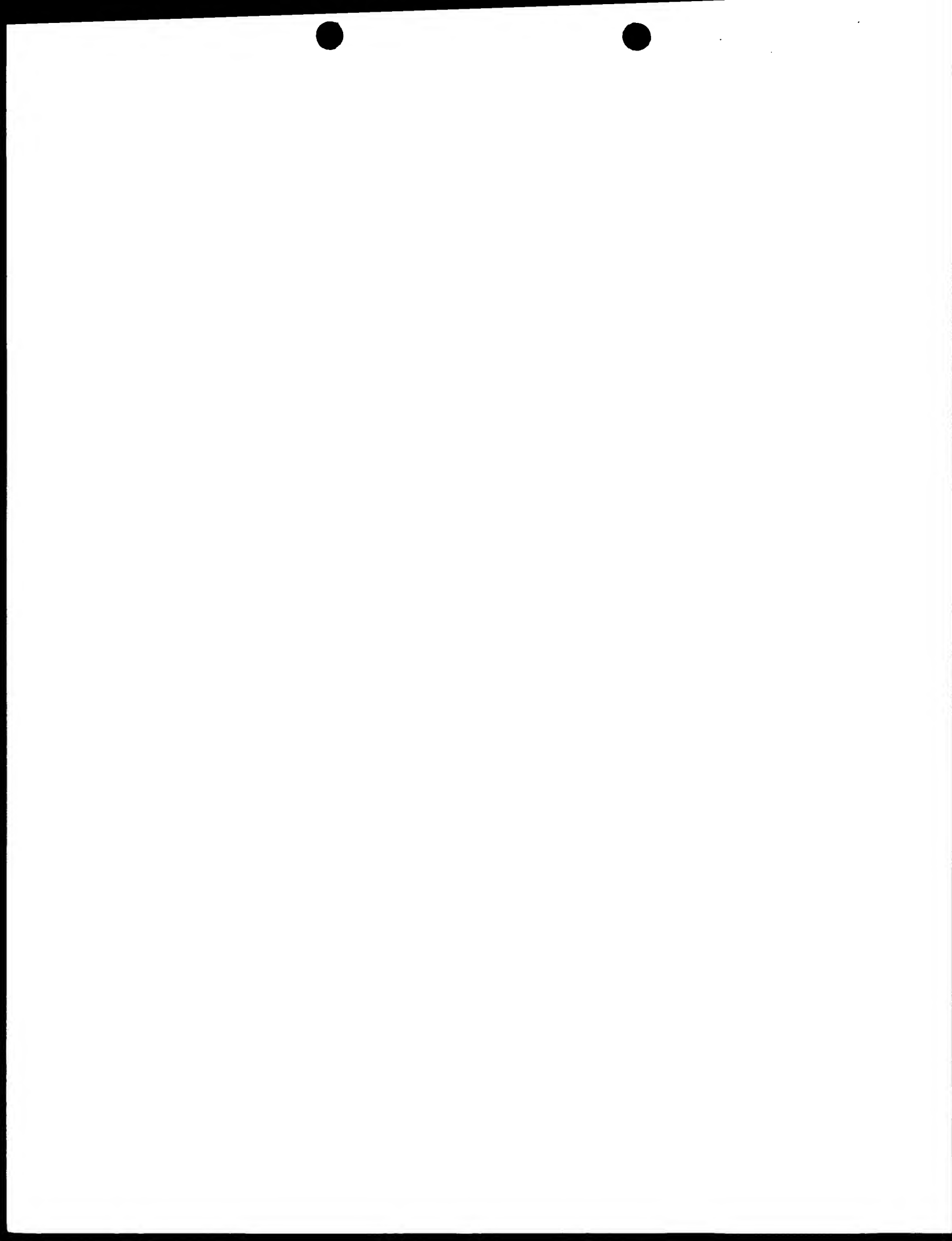
A further installation is known, with which the maximum number of samples, which can be processed in parallel, also is four (Laboratory Automation News, Vol. 2, No. 2, May 1997). Four pumps operate four columns here. Substances are detected in a UV detector, which has one deuterium lamp and four flow cells, at only two wavelengths, which can be set before the analysis. The peak recognition in the detector switches four fraction collectors. In principle, essentially several high-pressure liquid chromatography setups are used in parallel here. This is disadvantageously uneconomic.

A significant increase in the number of pumping lines can be achieved, if several channels are supplied in a parallel operation by a single pump or pump system, pumping at a constant rate, and a flow distribution, specified by the user, results. Such an arrangement is also known from US patent 5,198,115.



Amended Page 3a of the Original German Document

The flow rate of the mobile phase can also be recorded here by means of flow meters. However, it is used only for flow control and not for influencing the flow resistances in the individual separating lines.



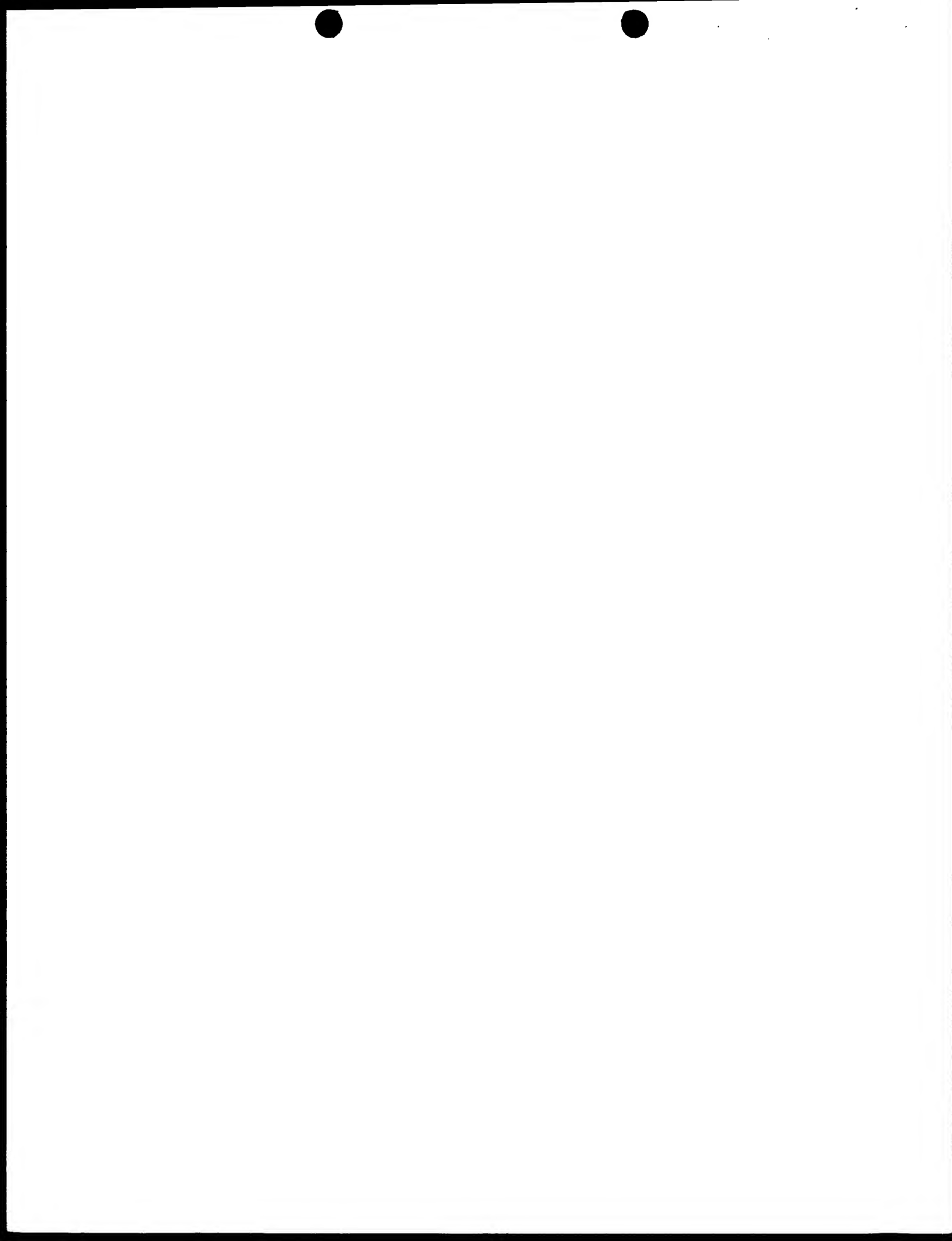
- There is no detailed description of how the flows in the different channels are to be controlled when the separating columns are operated in parallel. For example, if one channel becomes blocked in the apparatus shown, the flow in the other channels, in the absence of a control system, would increase.
- Likewise, it is doubtful whether the partitions on the disks prove to be tight at higher pressures. Mixing of different samples can therefore not be excluded here.

It is an object of the invention to offer an apparatus and a method for the liquid chromatographic separation under pressure, with which a parallel separation and detection, as well as a purification, if required, of at least several samples is possible, the apparatus having a compact, cost-saving construction.

This objective is accomplished with the characterizing portions of claims 1 and 16.

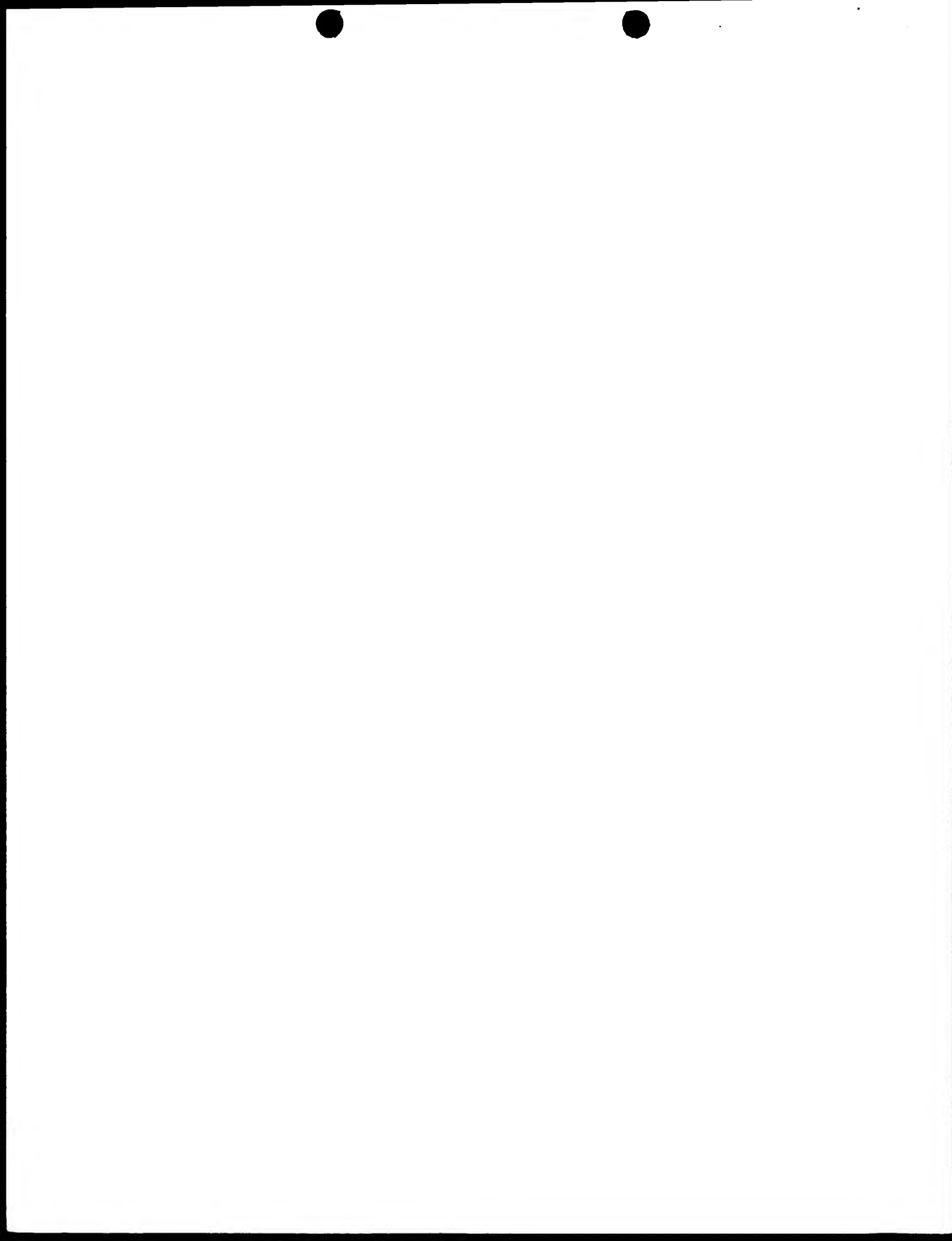
Advantageous further developments are given in the dependent claims.

The invention has several advantages. Significantly more samples can be separated, analyzed and purified in parallel per unit time. In the same time, in which a conventional high pressure, liquid chromatographic installation can separate only one sample or one of the above-described parallel chromatographic devices can separate four samples, the inventive equipment can separate, analyze and purify five or significantly more samples. Advantageously, in the case of the inventive apparatus, each separating line, including the separating columns, is separated physically from the others, so that mixing of the samples cannot take place. For an operation with a low pressure gradient, only one pump is required even for a parallel operation with significantly more than five separating columns



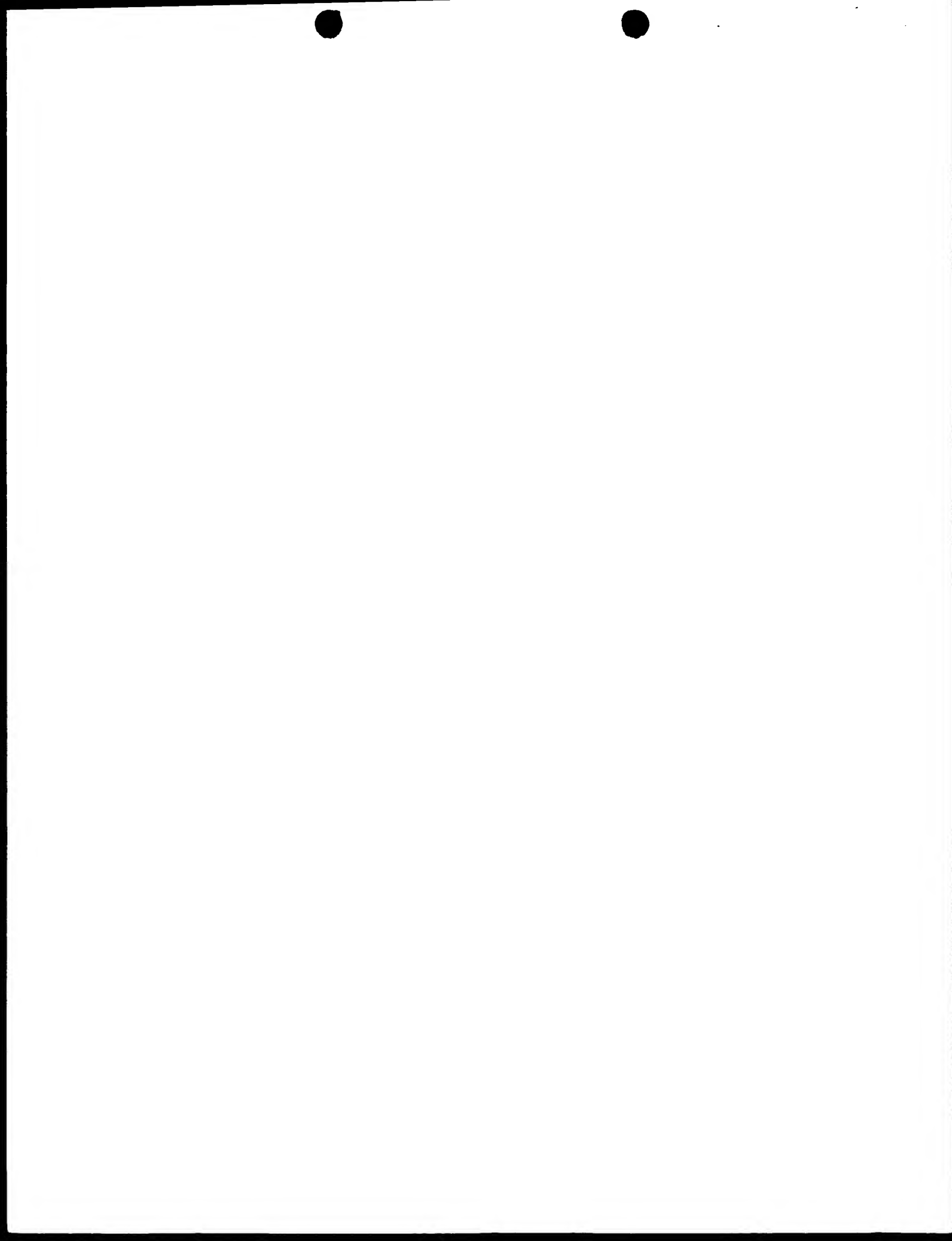
The samples, which are to be separated, are in sample vessels. Pursuant to a preferred embodiment of the invention, these are, for example, microtiter plates 15 in Figure 3. By means of a multi-parallel sample holding system 5, which may be constructed, for example, as an autosampler, eight samples are taken up simultaneously and supplied to the injection system 18, which consists of injection ports 6, injection valves 9 and sample loops 7 (Figures 1A, 1B). Through appropriate adjustment of the injection valve 9, excess sample material reaches the sample waste collector 8. If all eight sample delivery loops 7.1 to 7.8 are filled, all injection valves 9.1 to 9.8 are switched simultaneously and, in this manner, the sample loops 7.1 to 7.8, which are filled with samples, are connected with the separating columns 11.1 to 11.8, so that the samples are added in parallel and simultaneously to the separating columns 11.1 to 11.8. The separating columns 11.1 to 11.8 are disposed compactly in a separating column battery 11.

Over valves 1.1 to 1.4 and 2.1 to 2.4 and the pumps 3 and 4, the mobile phase is pumped over a pressure sensor 19, which is part of the flow control unit, into the individual separating lines 17.1 to 17.8. A low pressure gradient, as well as a high pressure gradient can be employed. In the case of the low pressure variant, the gradient is produced in a mixing chamber and pumped with a single pump. In the case of the high pressure gradient operation (Figure 3), the mobile phase is brought together by means of two pumps 3 and 4 on the high pressure side. The mobile phase, pumped by pumps 3 and/or 4, flows over the distribution 20 to the flow regulator 10 and transports the sample, in accordance with Figure 1A, from the sample loops 7 to the respective separating column 11. The components of the samples are separated in the known manner on separating columns 11.1 to 11.8.



Claims

1. An apparatus for the liquid chromatographic separation of substances under pressure, for which at least several liquid chromatographic separating lines (17), which are disposed in parallel, are supplied by a single pumping unit in the form of one or two pumps (3, 4) and, in the region, when the samples are supplied, are combined with a sample holding system (5) and an injection system (18) as well as, in the detection region, with a detector (13), connected with an evaluation and control unit (16), wherein the liquid chromatographic separation lines (17) have a separate flow control unit (10, 12, 12.1, 19), the flow regulating units (10, 12, 19) consisting of a flow controller (10.1 – 10.8), a total pressure meter (19) and flow meters (12.1 – 12.8).
2. The apparatus of claim 1, wherein the flow regulating units (10, 12, 19) in each separating line (17) can be controlled by software and/or hardware.
3. The apparatus of claims 1 to 2, wherein flow regulators (10) and flow meters (12) are disposed at different places in a separating line (17).
4. The apparatus of claims 1 or 2, wherein flow regulators (10) and flow meters (12) are disposed compactly in one place in the separating line (17).
5. The apparatus of claims 1 to 4, wherein the flow regulator unit (10, 12, 19) is disposed in front of or behind the separating columns (11.1 to 11.8).
6. The apparatus of claims 1 to 5, wherein the total pressure meter (19) is disposed on the output side of the pump (3, 4).



7. The apparatus of one of the claims 1 to 6, wherein the sample holding system (5) is connected with at least several parallel sample holding lines over at least several injection ports (6) and injection valves (9) and sample loops (7) of the multi-parallel injection system (18) are connected with at least several separating columns (11.1 to 11.8), which are coupled with a detector (13), which has several determination channels.

8. The apparatus of one of the claims 1 to 7, wherein the separating columns (11.1 to 11.8) are combined compactly into a battery of separating columns (11).

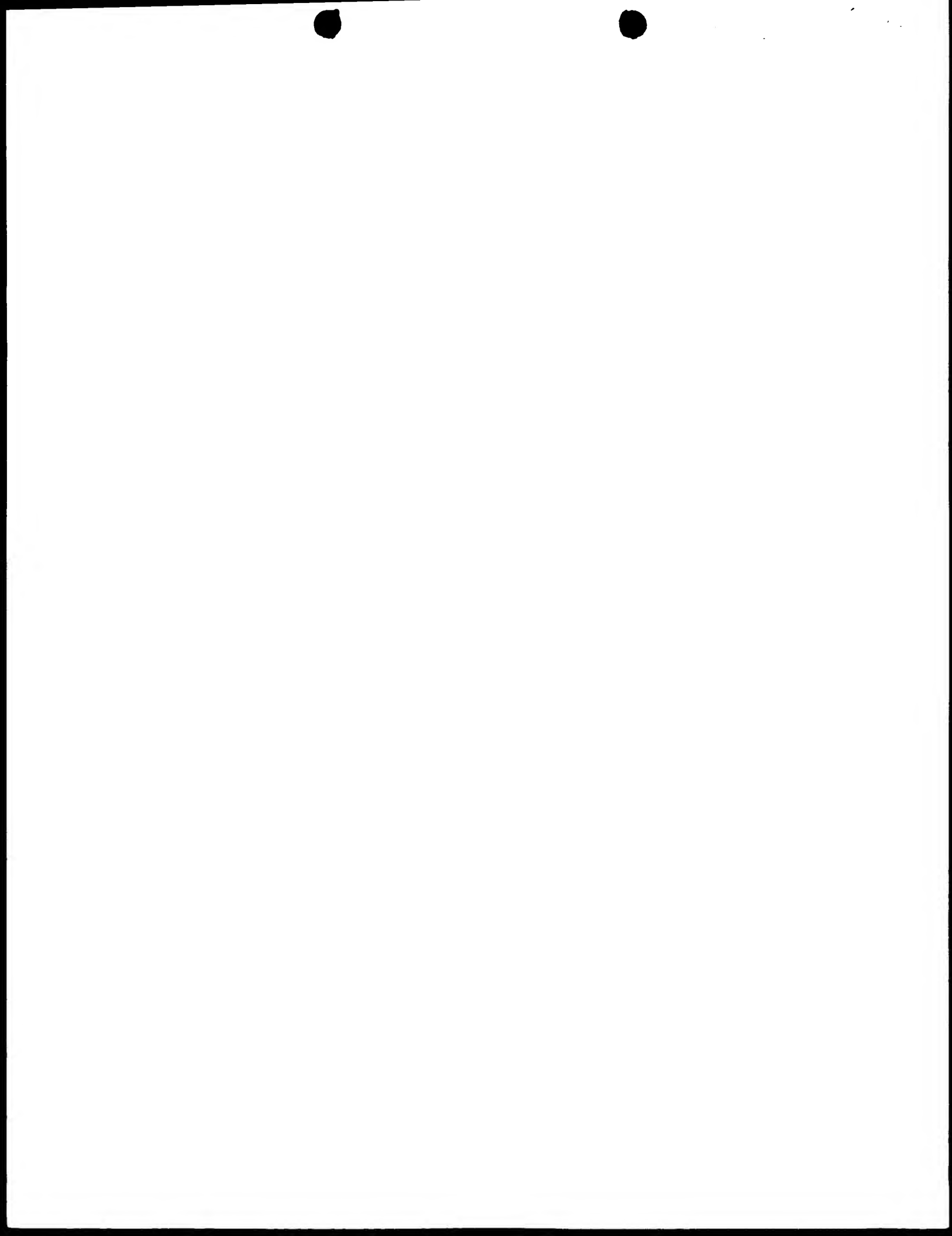
9. The apparatus of one of the claims 1 to 8, wherein each injection valve (9) is disposed before the separating columns (11.1 to 11.8).

10. The apparatus of one of the claims 1 to 9, wherein each injection valve (9) is constructed as a multiple way valve.

11. The apparatus of one of the claims 1 to 10, wherein each injection valve (9.1 to 9.8) has switching possibilities to an injection port (6), to a sample loop (7), to the pumps (3, 4), to a waste collector (8) and to a separating column (11.1 to 11.8).

12. The apparatus of one of the claims 1 to 11, wherein the separating lines (17.1 to 17.10) have a separating column and a solid phase extraction unit (13), which are coupled with further pumps (21, 22).

13. The apparatus of claim 12, wherein a multiple way valve, which can be connected with the solid phase extraction unit (23), the multi-parallel fraction output unit (24) and the waste collector (14), is disposed in the end region of the solid phase extraction unit (23).



14. The apparatus of one of the claims 12 or 13, wherein the solid phase extraction units (23) have at least two fractionating columns each.

15. The apparatus of one of the claims 12 to 14, wherein the solid phase extraction units (23) have between 10 and 50 fractionating columns.

16. A method for the liquid chromatographic separation of substances under pressure, for which several samples, which are to be separated, are supplied simultaneously to at least several separating columns (11) and, subsequently, a detection and selection takes place simultaneously and in parallel, wherein the separating lines (17) are calibrated with respect to the retention times by means of a calibration sample and, after the individual retention times have been determined, are adjusted to the same retention time by control with flow regulators (10) on the basis of data from flow meters (12) and initial pressure meters (19).

17. The method of claim 16, wherein the ratio of the total pressure to the volume flow to the respective separating line is used as actual value for indirectly controlling the volume flow.

REC'D PCT/PTO 06 AUG 2001

Amended Claims

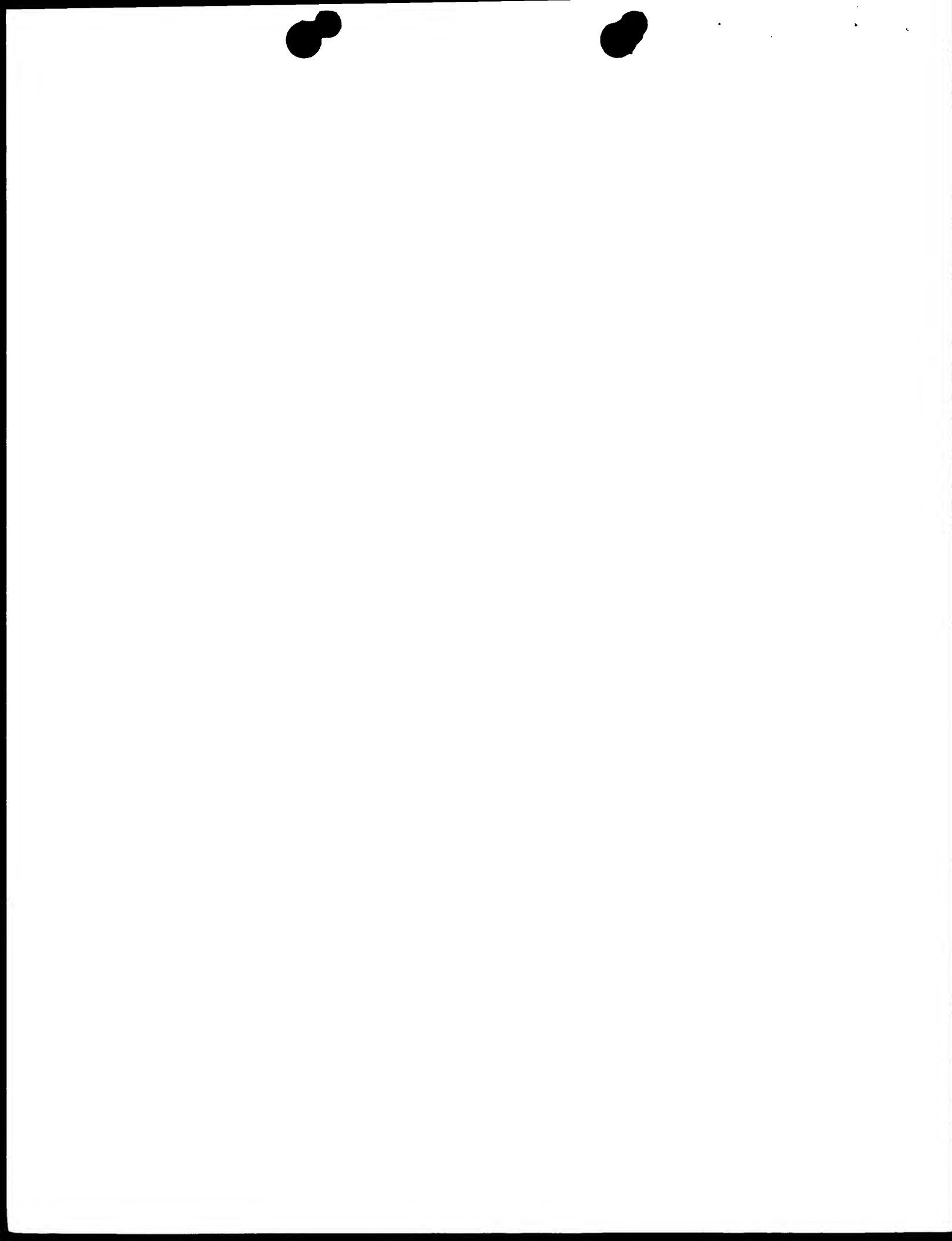
1. An apparatus for the liquid chromatographic separation of substances under pressure, for which at least several liquid chromatographic separating lines (17), which are disposed in parallel, are supplied by a single pumping unit in the form of one or two pumps (3, 4) and, in the region, when the samples are supplied, are combined with a sample holding system (5) and an injection system (18) as well as, in the detection region, with a detector (13), connected with an evaluation and control unit (16), wherein the liquid chromatographic separation lines (17) have a separate flow control unit (10, 12, 12.1, 19), the flow regulating units (10, 12, 19) consisting of a flow controller (10.1 - 10.8), a total pressure meter (19) and flow meters (12.1 - 12.8).

2. The apparatus of claim 1, wherein the flow regulating units (10, 12, 19) in each separating line (17) can be controlled by software and/or hardware.

3. (amended) The apparatus of ~~claims 1 to 2~~ claim 1, wherein flow regulators (10) and flow meters (12) are disposed at different places in a separating line (17).

4. (amende) The apparatus of ~~claims 1 or 2~~ claim 1, wherein flow regulators (10) and flow meters (12) are disposed compactly in one place in the separating line (17).

5. (amended) The apparatus of ~~claims 1 to 4~~ claim 1, wherein the flow regulator unit (10, 12, 19) is disposed



in front of or behind the separating columns (11.1 to 11.8).

6. (amended) The apparatus of ~~claims 1 to 5~~ claim 1, wherein the total pressure meter (19) is disposed on the output side of the pump (3, 4).

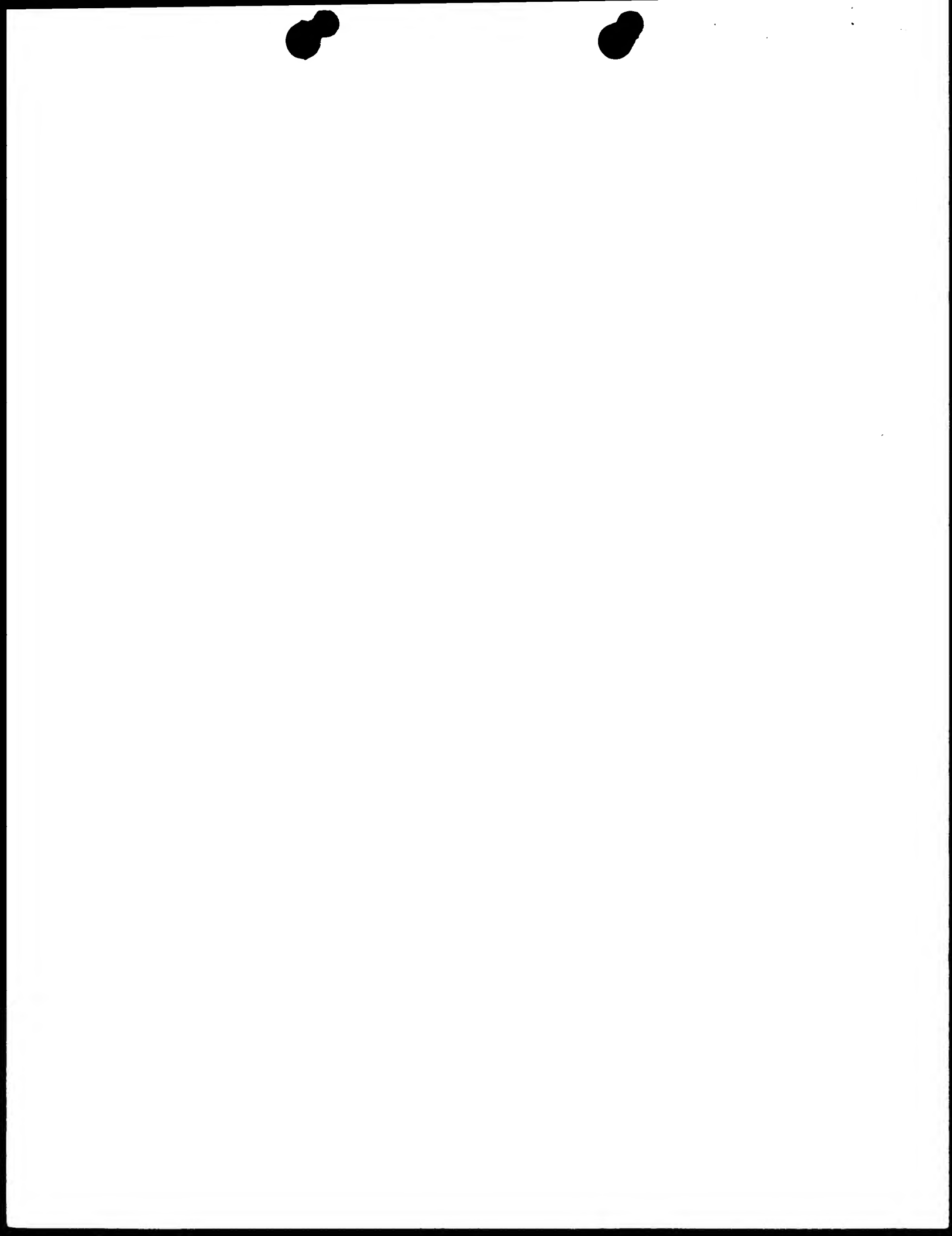
7. (amended) The apparatus of ~~one of the claims 1 to 6~~ claim 1, wherein the sample holding system (5) is connected with at least several parallel sample holding lines over at least several injection ports (6) and injection valves (9) and sample loops (7) of the multi-parallel injection system (18) are connected with at least several separating columns (11.1 to 11.8), which are coupled with a detector (13), which has several determination channels.

8. (amended) The apparatus of ~~one of the claims 1 to 7~~ claim 1, wherein the separating columns (11.1 to 11.8) are combined compactly into a battery of separating columns (11).

9. (amended) The apparatus of ~~one of the claims 1 to 8~~ claim 1, wherein each injection valve (9) is disposed before the separating columns (11.1 to 11.8).

10. (amended) The apparatus of ~~one of the claims 1 to 9~~ claim 1, wherein each injection valve (9) is constructed as a multiple way valve.

11. (amended) The apparatus of ~~one of the claims 1 to 10~~ claim 1, wherein each injection valve (9.1 to 9.8)



has switching possibilities to an injection port (6), to a sample loop (7), to the pumps (3, 4), to a waste collector (8) and to a separating column (11.1 to 11.8).

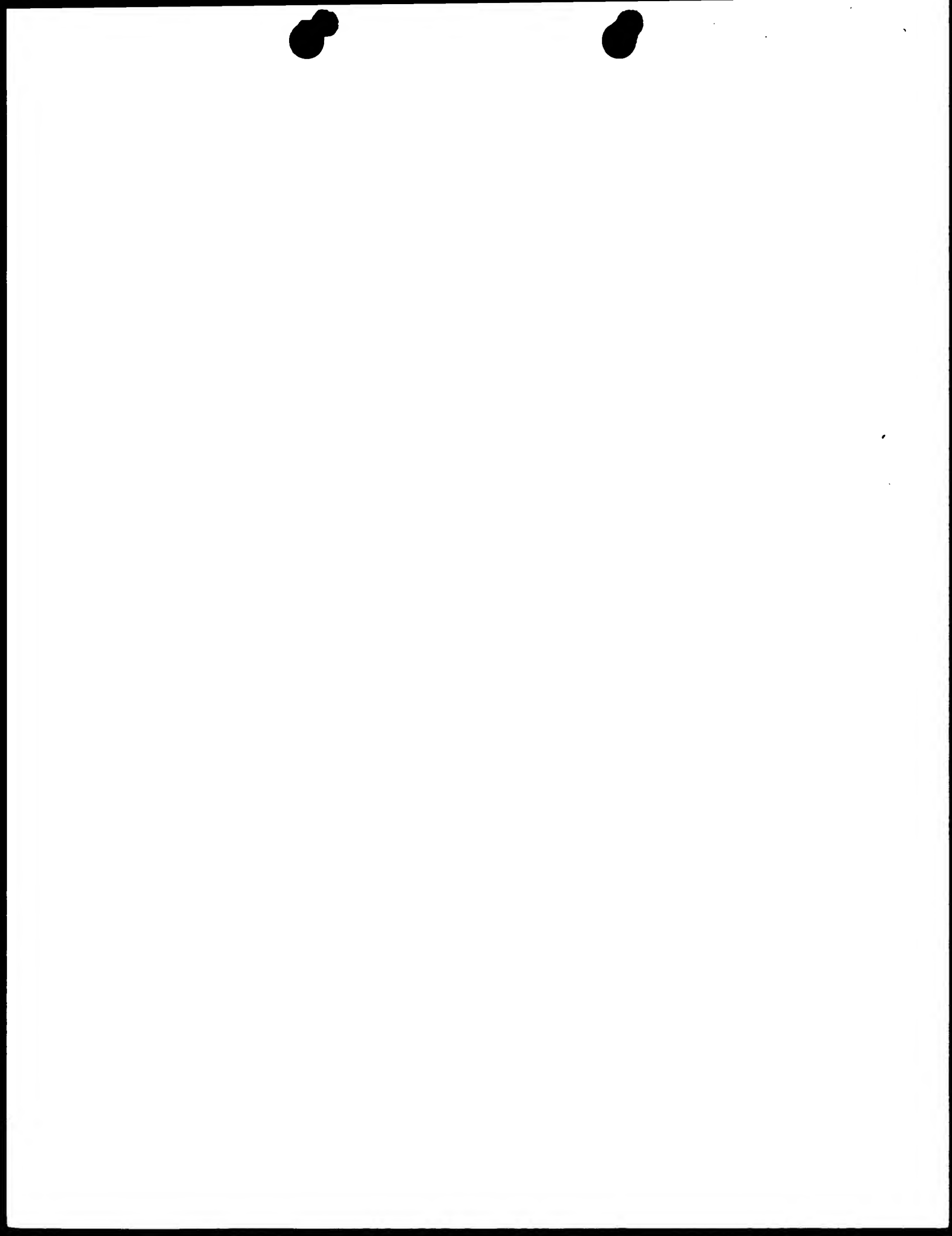
12. (amended) The apparatus of ~~one of the claims 1 to 11~~ claim 1, wherein the separating lines (17.1 to 17.10) have a separating column and a solid phase extraction unit (13), which are coupled with further pumps (21, 22).

13. The apparatus of claim 12, wherein a multiple way valve, which can be connected with the solid phase extraction unit (23), the multi-parallel fraction output unit (24) and the waste collector (14), is disposed in the end region of the solid phase extraction unit (23).

14. (amended) The apparatus of ~~one of the claims 12 or 13~~ claim 12, wherein the solid phase extraction units (23) have at least two fractionating columns each.

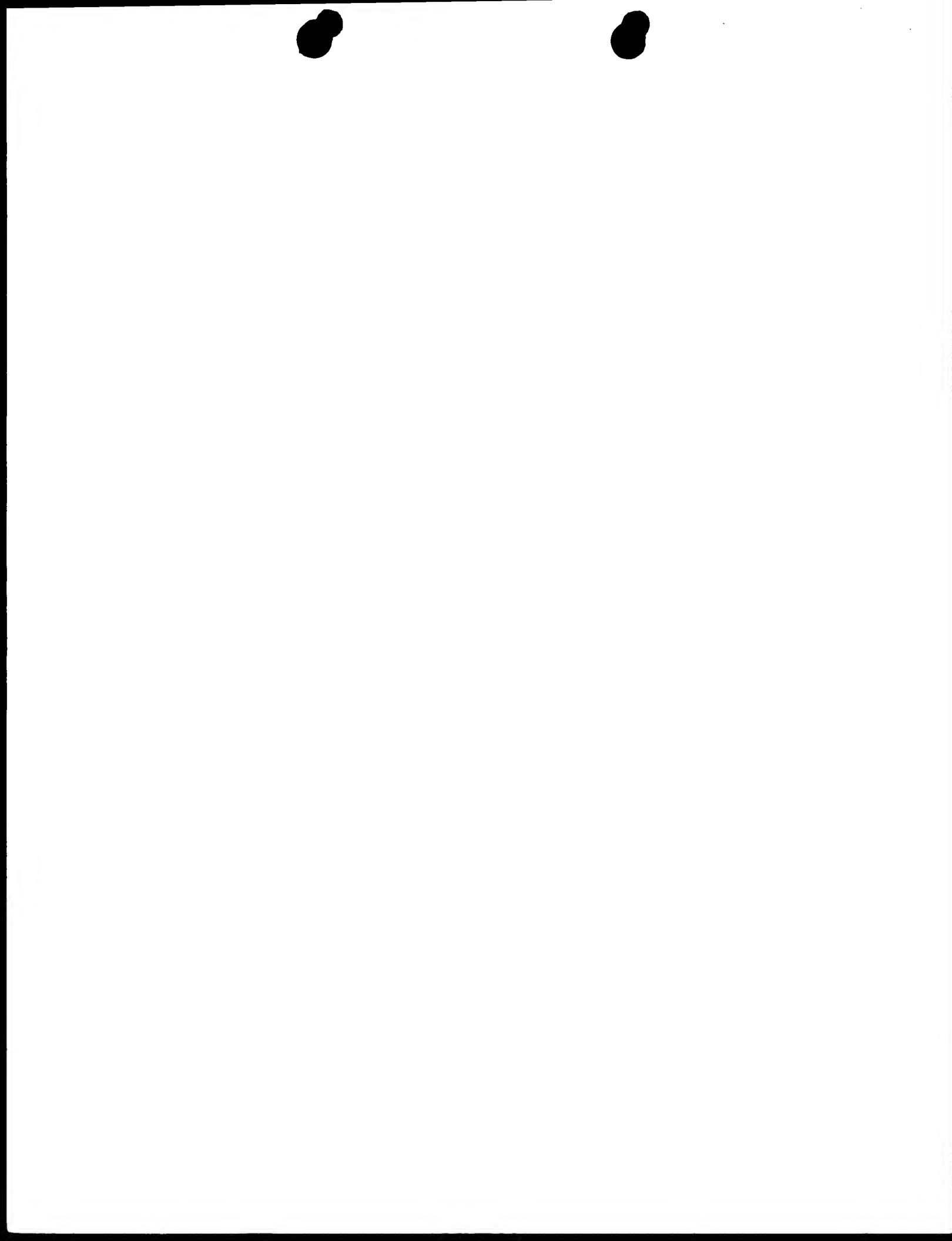
15. (amended) The apparatus of ~~one of the claims 12 to 14~~ claim 12, wherein the solid phase extraction units (23) have between 10 and 50 fractionating columns.

16. A method for the liquid chromatographic separation of substances under pressure, for which several samples, which are to be separated, are supplied simultaneously to at least several separating columns (11) and, subsequently, a detection and selection takes place simultaneously and in parallel, wherein the separating lines (17) are calibrated with respect to the retention times by means of a calibration sample and, after the



individual retention times have been determined, are adjusted to the same retention time by control with flow regulators (10) on the basis of data from flow meters (12) and initial pressure meters (19).

17. The method of claim 16, wherein the ratio of the total pressure to the volume flow to the respective separating line is used as actual value for indirectly controlling the volume flow.



PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P46497PC-Gu	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 99/ 09747	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/11/1999	(Früheste) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 20/11/1998
Anmelder ANALYTICON AG et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1A

☒ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☐ keine der Abb.



A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 G01N30/46 B01D15/08

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 G01N B01D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 198 115 A (STALLING DAVID L ET AL) 30. März 1993 (1993-03-30)	1-5, 7-9, 11, 12, 14, 15, 19 13, 16, 20
A	Spalte 4, Zeile 5-24 Spalte 4, Zeile 55 - Spalte 5, Zeile 14 Spalte 5, Zeile 51 - Spalte 6, Zeile 37 Spalte 8, Zeile 54 - Spalte 9, Zeile 58 ---	
A	US 3 922 223 A (BURKHARTSMEIER GARY L) 25. November 1975 (1975-11-25) ---	1
A	DE 196 41 210 A (ANALYTICON AG BIOTECHNOLOGIE P) 2. April 1998 (1998-04-02) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung; Abbildung 1 ---	1
	--- -/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

3. April 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

14/04/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Zinngrebe, U

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/09747

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5198115	A	30-03-1993	NONE	
US 3922223	A	25-11-1975	NONE	
DE 19641210	A	02-04-1998	WO 9813118 A EP 0946236 A	02-04-1998 06-10-1999
EP 0275933	A	27-07-1988	JP 8030989 B JP 63177209 A JP 1044847 A JP 1987559 C JP 7015458 B DE 3850786 D DE 3850786 T DE 3851763 D DE 3851763 T EP 0438184 A US 4984602 A	27-03-1996 21-07-1988 17-02-1989 08-11-1995 22-02-1995 01-09-1994 12-01-1995 10-11-1994 02-03-1995 24-07-1991 15-01-1991

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/09747

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N30/46 B01D15/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B01D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 198 115 A (STALLING DAVID L ET AL) 30 March 1993 (1993-03-30)	1-5, 7-9, 11, 12, 14, 15, 19 13, 16, 20
A	column 4, line 5-24 column 4, line 55 -column 5, line 14 column 5, line 51 -column 6, line 37 column 8, line 54 -column 9, line 58 ---	
A	US 3 922 223 A (BURKHARTSMEIER GARY L) 25 November 1975 (1975-11-25) ---	1
A	DE 196 41 210 A (ANALYTICON AG BIOTECHNOLOGIE P) 2 April 1998 (1998-04-02) cited in the application abstract; figure 1 --- -/-	1



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 April 2000

Date of mailing of the international search report

14/04/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Zinngrebe, U

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/09747

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>EP 0 275 933 A (JAPAN SPECTROSCOPI CO) 27 July 1988 (1988-07-27) page 4, line 15-26 page 4, line 54 -page 5, line 10; figure 1 -----</p>	6

INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/09747

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5198115 A	30-03-1993	KEINE	
US 3922223 A	25-11-1975	KEINE	
DE 19641210 A	02-04-1998	WO 9813118 A EP 0946236 A	02-04-1998 06-10-1999
EP 0275933 A	27-07-1988	JP 8030989 B JP 63177209 A JP 1044847 A JP 1987559 C JP 7015458 B DE 3850786 D DE 3850786 T DE 3851763 D DE 3851763 T EP 0438184 A US 4984602 A	27-03-1996 21-07-1988 17-02-1989 08-11-1995 22-02-1995 01-09-1994 12-01-1995 10-11-1994 02-03-1995 24-07-1991 15-01-1991

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/09747

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>EP 0 275 933 A (JAPAN SPECTROSCOPI CO)</p> <p>27. Juli 1988 (1988-07-27)</p> <p>Seite 4, Zeile 15-26</p> <p>Seite 4, Zeile 54 -Seite 5, Zeile 10;</p> <p>Abbildung 1</p> <p>-----</p>	6

VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

RECD 16 MAR 2001

WIPO PCT

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P46497PC-Gu	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/09747	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/11/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 20/11/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK G01N30/46		
Anmelder SEPIATEC GMBH et al.		


- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt 10 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 20/06/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 14.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Müller, T Tel. Nr. +49 89 2399 2285





I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

2,4,6,8-14	ursprüngliche Fassung			
3,3a,7	eingegangen am	31/01/2001	mit Schreiben vom	23/01/2001
1,5	eingegangen am	01/03/2001	mit Schreiben vom	01/03/2001

Patentansprüche, Nr.:

1-17	eingegangen am	01/03/2001	mit Schreiben vom	01/03/2001
------	----------------	------------	-------------------	------------

Zeichnungen, Blätter:

1/6-6/6	ursprüngliche Fassung
---------	-----------------------

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt



Es wird auf das folgende Dokument verwiesen:

D1: US-A-5198115

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Die Anmeldung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur parallelen flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen. Die Aufgabe der Erfindung besteht in der Bereitstellung einer kompakten integrierten Konstruktion zur parallelen Auftrennung und Reinigung von Substanzen.
2. Neuheit:
Den nächstliegenden Stand der Technik offenbart D1, worin dieselbe Aufgabenstellung durch eine Vorrichtung mit gemeinsamer Pumpe 22 und mehreren parallel betriebenen Trennsäulen 76 gelöst wird. In jeder flüssigchromatographischen Trennungslinie wird eine separate Flussregelungseinheit 82 und ein Detektor 81 offenbart.

Aus D1 geht nicht hervor, daß die Flussregelungseinheiten aus einem Flussregler, einem Gesamtdruckmesser und einem Flussmesser bestehen, und daß nach Ermittlung der einzelnen Retentionszeiten durch Steuerung von Flussreglern aufgrund von Daten von Flussmessern und Ausgangsdruckmesser für alle Proben die gleiche Retentionszeit eingestellt wird.

Daher sind die Vorrichtung gemäß Anspruch 1 sowie das Verfahren nach Anspruch 16 neu gegenüber dem aus dem Recherchenbericht bekannten Stand der Technik (Artikel 33(2) PCT).

3. Erfinderische Tätigkeit:



Eine Flussregelung nach Anspruch 1 oder 16 geht aus den weiteren im Recherchenbericht genannten Dokumenten nicht hervor und wird durch sie auch nicht nahegelegt. Daher erfüllen die Ansprüche 1 und 16 das Erfordernis der erfinderischen Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT).

4. Die industrielle Anwendbarkeit ist gegeben.

5. Abhängige Ansprüche:

Die Ansprüche 2 - 15 und 17 enthalten die Merkmale der Ansprüche 1 und 16 und erfüllen damit ebenfalls die Kriterien des PCT (Artikel 33).



5

Vorrichtung und Verfahren zur parallelen flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen

10

Beschreibung

15

Die Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen unter Druck gemäß den Oberbegriffen der Ansprüche 1 und 16.

20

25

Zur präparativen und analytischen Trennung von Substanzgemischen werden sog. chromatographische Trennanlagen verwendet. Diese bestehen im wesentlichen aus jeweils einer Fördereinheit (Pumpe), einem Injektionssystem, der eigentlichen Trennvorrichtung (Säule) und einem Detektor. Die Auftrennung von aus organischen Bestandteilen bestehenden Stoffgemischen wird derzeit durch die Hochdruckflüssigchromatographie dominiert. Die Gründe sind im wesentlichen in der Anwendungsbreite und Universalität sowie der Robustheit und Anwenderfreundlichkeit der Methode zu sehen. Mittels der Hochdruckflüssigchromatographie ist es möglich, praktisch jedes organische Substanzgemisch aufzutrennen und zu detektieren. Neben der Analyse von Einzelproben, bei der die Trennparameter optimal und entsprechend variierbar sein sollen, müssen mit zunehmender Tendenz in

35



durchführen zu können. Derzeitige parallelisierte Trennanlagen benötigen je eine Fördereinrichtung pro Trennvorrichtung (Säule). Dies ist jedoch in der Regel unökonomisch. Darüberhinaus zeigen solche Mehrkanalanlagen in den einzelnen Förderlinien voneinander abweichende Retentionszeiten.

Es sind Hochdruckchromatographieanlagen bekannt, bei denen mit insgesamt sieben Pumpen, einem Säulenkarussell mit sechzehn Säulen, vier einzelnen Detektoren und einem Fraktionssammler maximal vier Proben parallel bearbeitet werden können (Laborpraxis, Dezember 1967, Seite 61-63). Hinzu kommt, daß aufgrund ihrer aufwendigen Konstruktion im Vergleich zu der geringen zu bearbeitenden Probenzahl ein ökonomisches Arbeiten nicht gestattet ist.

Eine weitere Anlage ist bekannt, mit der sich maximal ebenfalls vier Proben parallel bearbeiten lassen (Laboratory Automation News, Vol. 2, No. 2, Mai 1997). Hier betreiben vier Pumpen vier Säulen. Substanzen werden in einem UV-Detektor, der eine Deuteriumlampe und vier Flusszellen aufweist, bei nur zwei vor der Analyse einstellbaren Wellenlängen detektiert. Die Peakerkennung im Detektor schaltet vier Fraktionssammler. Im Prinzip werden hier im wesentlichen mehrere Hochdruckflüssigchromatographiegeräte parallel eingesetzt. Das ist nachteiligerweise unökonomisch.

Eine wesentliche Steigerung der Zahl der Förderlinien ist erreichbar, wenn mehrere Kanäle im Parallelbetrieb von einer einzigen konstant fördernden Pumpe (bzw. Pumpensystem) versorgt werden und eine seitens des Anwen-



3a *

ders vorgegebene Flussverteilung entsteht. Eine solche Anordnung ist aus der US-A-5.198.115 bekannt.

5 Die Durchflußrate der mobilen Phase kann hier mittels Flussmessern registriert werden. sie dient jedoch lediglich der Durchflusskontrolle und nicht zur Beeinflussung der Stömungswiderstände in den einzelnen Trennungslinien.

GEÄNDERTES BLATT



stellten Vorrichtung ohne Regelung automatisch der Fluss in den anderen Kanälen erhöhen.

- Ebenso ist es fraglich, ob sich die Trennwände auf den Scheiben bei höheren Drücken noch als dicht erweisen. Eine Vermischung verschiedener Proben kann deshalb hier nicht ausgeschlossen werden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung unter Druck anzubieten, mit denen eine parallele Auftrennung und Detektion sowie eine Aufreinigung, wenn erforderlich, von mindestens mehreren Proben möglich ist, wobei die Vorrichtung eine kompakte, kostensparende Konstruktion aufweisen soll.

Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit den kennzeichnenden Teilen der Ansprüche 1 und 16.

Vorteilhafte Weiterbildungen sind in den Unteransprüchen aufgeführt.

Die Erfindung weist verschiedene Vorteile auf. Pro Zeiteinheit können bedeutend mehr Proben parallel getrennt, analysiert und aufgereinigt werden. In der gleichen Zeit, in der eine herkömmliche Hochdruckflüssigchromatographieanlage nur eine Probe oder eine der oben beschriebenen Parallelchromatographievorrichtungen vier Proben auftrennen, kann die erfindungsgemäße Vorrichtung fünf oder bedeutend mehr Proben auftrennen, analysieren und aufreinigen. Vorteilhafterweise ist bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung jede Trennungslinie einschließlich der Trennsäulen physikalisch von der anderen getrennt, so daß eine Vermischung der Proben nicht stattfinden kann. Für den Betrieb mit Niederdruckgradient werden selbst bei einem Parallelbetrieb von wesentlich mehr als fünf Trennsäulen nur eine Pumpe



Die zu trennenden Proben befinden sich in Probengefä-
ßen. Gemäß einer bevorzugten Ausführung der Erfindung
sind dies beispielsweise Mikrotiterplatten 15 in
5 Fig. 3. Mittels eines multiparallelen Probeaufnahme-
systemes 5, das beispielsweise als Autosampler ausge-
bildet sein kann, werden gleichzeitig acht Proben auf-
genommen und dem Injektionssystem 18 zugeführt, das aus
Injektionsports 6, Injektionsventilen 9 und Proben-
10 schleifen 7 besteht (Fig. 1A, 1B). Überflüssiges Pro-
benmaterial gelangt durch die entsprechende Stellung
des Injektionsventils 9 in den Probenabfall 8. Sind al-
le acht Probeaufgaben Schleifen 7.1 - 7.8 befüllt, werden
alle Injektionsventile 9.1 - 9.8 gleichzeitig geschal-
15 tet und auf diese Weise die mit Proben gefüllten Pro-
bens Schleifen 7.1 - 7.8 mit den Trennsäulen 11.1 - 11.8
verbunden, so daß die Proben parallel und gleichzeitig
auf die Trennsäulen 11.1 - 11.8 aufgegeben werden. Die
Trennsäulen 11.1 - 11.8 sind in einer Trennsäulenbatte-
20 rie 11 kompakt angeordnet.

Über die Ventile 1.1 - 1.4 und 2.1 - 2.4 und die Pum-
pen 3 und 4 wird die mobile Phase über einen Drucksen-
sor 19, der Teil der Flussregelungseinheit ist, in die
25 einzelnen Trennungslinien 17.1 - 17.8 gefördert. Es
kann sowohl ein Niederdruck- als auch ein Hochdruckgra-
dient gefahren werden. Im Falle der Niederdruckvariante
wird der Gradient in einer Mischkammer erzeugt und mit
einer einzigen Pumpe gefördert. Bei Hochdruckgradien-
30 tenbetrieb (vergl. Fig. 3) werden die Flußmittel
mittels zweier Pumpen 3 und 4 auf der Hochdruckseite
zusammengeführt. Die von den Pumpen 3 und / oder 4 ge-
förderete mobile Phase fließt über die Verteilung 20 zum
Flussregler 10 und transportiert die Proben gemäß Fig.
35 1A von den Probenschleifen 7 auf die jeweilige ~~Probe~~



Patentansprüche

5

10

15

20

25

30

1. Vorrichtung zur flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen unter Druck, bei der mindestens mehrere parallel verlaufend angeordnete flüssigchromatographische Trennungslinien (17) von einer einzigen Fördereinheit in Form von ein oder zwei Pumpen (3, 4) versorgt werden und im Bereich der Probenzuführung mit einem Probenaufnahmesystem (5) und einem Injektionssystem (18) sowie im Detektionsbereich mit einem Detektor (13), verbunden mit einer Auswerte- u. Steuereinheit (16), kombiniert sind,

dadurch gekennzeichnet,

daß jede flüssigchromatographische Trennungslinie (17) eine separate Flussregelungseinheit (10, 12, 19) aufweist, wobei die Flussregelungseinheiten (10, 12, 19) aus einem Flussregler (10.1 - 10.8), einem Gesamtdruckmesser (19) und einem Flussmesser (12.1 - 12.8) bestehen.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Flußregelungseinheiten (10, 12, 19) in jeder Trennungslinie (17) soft- und/oder hardwaremäßig steuerbar sind.

3. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 oder 2,

dadurch gekennzeichnet,



daß Flussregler (10) und Flussmesser (12) in einer Trennungslinie (17) an verschiedenen Orten angeordnet sind.

5

4. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,
daß Flussregler (10) und Flussmesser (12) in den
Trennungslinien (17) kompakt an einem Ort angeordnet sind.

10

5. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Flussregelungseinheit (10,12,19) vor
oder hinter den Trennsäulen (11.1 - 11.8) angeordnet ist.

15

6. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,
daß der Gesamtdruckmesser (19) ausgangs der Pumpen
(3, 4) angeordnet ist.

20

25

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet,
daß das Probenaufnahmesystem (5) mit mindestens
mehreren parallelen Probeaufnahmelinien über mindestens mehrere Injektionsports (6) und

30



Injektionsventile (9) und Probenschleifen (7) des multiparallelen Injektionssystems (18) mit mindestens mehreren Trennsäulen (11.1 - 11.8) verbunden sind, die mit einem Detektor (13) gekoppelt sind,
5 der mindestens mehrere Bestimmungskanäle aufweist.

8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,

10 daß die Trennsäulen (11.1 - 11.8) zu einer Trennsäulenbatterie (11) kompakt vereinigt sind.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
15 dadurch gekennzeichnet,

daß jedes Injektionsventil (9) vor den Trennsäulen (11.1 - 11.8) angeordnet ist.

20 10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
dadurch gekennzeichnet,

daß jedes Injektionsventil (9) als Mehrwegventil ausgebildet ist.

25 11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10,
dadurch gekennzeichnet,

30 daß jedes Injektionsventil (9.1-9.8) Schaltmöglichkeiten zu einem Injektionsport (6), zu einer Probenschleife (7), zu den Pumpen (3, 4), zu einem Abfall (8) und zu einer Trennsäule (11.1 - 11.8) aufweist.



12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11,

dadurch gekennzeichnet,

5 daß die Trennungslinien (17.1-17.10) eine Trennsäule und eine Festphasenextraktionseinheit (23) aufweisen, die mit weiteren Pumpen (21, 22) gekoppelt ist.

10 13. Vorrichtung nach Anspruch 12,

dadurch gekennzeichnet, daß

15 im Endbereich der Festphasenextraktionseinheit (23) ein mit der Festphasenextraktionseinheit (23), der multiparallelen Fraktionsausgabereinheit (24) und dem Abfall (14) eine Verbindung herstellbares Mehrwege-Ventil angeordnet ist.

20 14. Vorrichtung nach Anspruch 12 oder 13,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Festphasenextraktionseinheiten (23) mindestens je zwei Fraktioniersäulen aufweisen.

25 15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 12 bis 14,

dadurch gekennzeichnet, daß

30 die Festphasenextraktionseinheiten (23) je zwischen 10 und 50 Fraktioniersäulen aufweisen.



16. Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen unter Druck, bei dem mehrere zu trennende Proben gleichzeitig mindestens mehreren Trennsäulen (11) zugeführt werden und anschließend gleichzeitig und parallel eine Detektion und Auswahl erfolgt

dadurch gekennzeichnet,

daß die Trennungslinien (17) bezüglich der Retentionszeiten mittels einer Kalibrierprobe kalibriert werden und nach Ermittlung der einzelnen Retentionszeiten durch Steuerung von Flussreglern (10) aufgrund von Daten von Flussmessern (12) und Ausgangsdruckmesser (19) für alle Proben die gleiche Retentionszeit eingestellt wird.

17. Verfahren nach Anspruch 16,

dadurch gekennzeichnet,

daß der Quotient aus Gesamtdruck und Volumenstrom der jeweiligen Trennungslinie als Istwert für eine indirekte Regelung des Volumenstromes herangezogen wird.



Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P46497PC-Gu	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP99/09747	International filing date (<i>day/month/year</i>) 22 November 1999 (22.11.99)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 20 November 1998 (20.11.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 30/46		
Applicant SEPIATEC GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 10 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 20 June 2000 (20.06.00)	Date of completion of this report 14 March 2001 (14.03.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/09747

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 2,4,6,8-14, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages 3.3a,7, filed with the letter of 23 January 2001 (23.01.2001),
pages 1,5, filed with the letter of 01 March 2001 (01.03.2001).
- ☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1-17, filed with the letter of 01 March 2001 (01.03.2001),
Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/6-6/6, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No
PCT/EP 99/09747

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability: citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

This report makes reference to the following document:

D1: US-A-5 198 115.

1. The application relates to a device and a method for parallel separation of substances by liquid chromatography. The problem addressed by the invention consists in the providing of a compact, integrated construction for parallel separation and purification of substances.

2. Novelty:

D1 discloses the closest prior art. In that document, the same problem is solved by means of a device with an integrated pump 22 and a plurality of separating columns 76 operated in parallel. In each liquid chromatography separating line, a separate flow-regulating unit 82 and a detector 81 are disclosed.

D1 does not suggest that the flow-regulating units consist of a flow regulator, a total pressure gauge and a flowmeter and that, after the individual retention times have been determined, the same retention time is set for all the samples by means of

the flow regulators on the basis of data from the flowmeters and the output pressure gauges.

The device according to Claim 1 and the method according to Claim 16 are therefore novel over the prior art cited in the search report (PCT Article 33(1)).

3. Inventive step:

A flow regulation according to Claims 1 or 16 is neither suggested by nor obvious from the other documents cited in the search report. Claims 1 and 16 therefore meet the requirement of inventive step (PCT Article 33(3)).

4. Industrial applicability is clear.

5. Dependent claims:

Claims 2 to 15 and 17 contain the features of Claims 1 and 16 and therefore also meet the criteria stipulated by PCT Article 33.



Vorrichtung und Verfahren zur parallelen flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen

Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen unter Druck gemäß den Oberbegriffen der Ansprüche 1 und 19.

Zur präparativen und analytischen Trennung von Substanzgemischen werden sog. chromatographische Trennanlagen verwendet. Diese bestehen im wesentlichen aus jeweils einer Fördereinheit (Pumpe), einem Injektionssystem, der eigentlichen Trennvorrichtung (Säule) und einem Detektor. Die Auftrennung von aus organischen Bestandteilen bestehenden Stoffgemischen wird derzeit durch die Hochdruckflüssigchromatographie dominiert. Die Gründe sind im wesentlichen in der Anwendungsbreite und Universalität sowie der Robustheit und Anwenderfreundlichkeit der Methode zu sehen. Mittels der Hochdruckflüssigchromatographie ist es möglich, praktisch jedes organische Substanzgemisch aufzutrennen und zu detektieren. Neben der Analyse von Einzelproben, bei der die Trennparameter optimal und entsprechend variierbar sein sollen, müssen mit zunehmender Tendenz in

vielen Bereichen große Probenserien unter exakt den gleichen Bedingungen analysiert oder aufgereinigt werden. Dabei ist vor allem für den analytischen Bedarf häufig eine exakte Vergleichbarkeit der Chromatogramme und eine eindeutige Identifikation von getrennten Substanzen anhand der Retentionszeiten im Chromatogramm erforderlich. Nicht zu vermeidende Unterschiede in der Art der Befüllung der Chromatographiesäulen mit stationären Phasenmaterial, z. B. in der Füllhöhe oder in der Packungsdichte, können jedoch zu unterschiedlichen Retentionszeiten führen, so daß eine exakte Vergleichbarkeit der Chromatogramme nicht mehr gegeben ist.

Bisher werden für analytische und präparative Zwecke jeweils einzelne chromatographische Trennanlagen für die Trennung einzelner Substanzgemische verwendet. Die Suche nach pharmazeutisch verwertbaren Naturstoffen und die Synthese ganzer Substanzbibliotheken mittels kombinatorischer Chemie hat in neuerer Zeit allerdings zu erhöhten Anforderungen an den Probendurchsatz bei flüssigchromatographischen Anlagen geführt.

So ist es bekannterweise möglich, über serielle Analysen oder Aufreinigung von Proben, Probenserien nacheinander zu bearbeiten. Dieses Vorgehen jedoch ist sehr zeitaufwendig und führt zu langen Zeiträumen zwischen der Prozessierung der ersten und der letzten Probe. Nachteiligerweise kann bei der Durchführung der flüssigchromatographischen Trennungen über längere Zeiträume die Konstanz der Bedingungen nicht garantiert werden, da sich unter anderem Proben, Säulenmaterialien und Lösungsmittel verändern.

Um eine große Zahl von Proben zu analysieren (sog. „high throughput screening“), ist es deshalb wünschenswert, eine größere Zahl von Trennungen gleichzeitig

durchführen zu können. Derzeitige parallelisierte Trennanlagen benötigen je eine Fördereinrichtung pro Trennvorrichtung (Säule). Dies ist jedoch in der Regel unökonomisch. Darüberhinaus zeigen solche Mehrkanalanlagen in den einzelnen Förderlinien voneinander abweichende Retentionszeiten.

Es sind Hochdruckchromatographieanlagen bekannt, bei denen mit insgesamt sieben Pumpen, einem Säulenkarussell mit sechzehn Säulen, vier einzelnen Detektoren und einem Fraktionssammler maximal vier Proben parallel bearbeitet werden können (Laborpraxis, Dezember 1967, Seite 61-63). Hinzu kommt, daß aufgrund ihrer aufwendigen Konstruktion im Vergleich zu der geringen zu bearbeitenden Probenzahl ein ökonomisches Arbeiten nicht gestattet ist.

Eine weitere Anlage ist bekannt, mit der sich maximal ebenfalls vier Proben parallel bearbeiten lassen (Laboratory Automation News, Vol. 2, No. 2, Mai 1997). Hier betreiben vier Pumpen vier Säulen. Substanzen werden in einem UV-Detektor, der eine Deuteriumlampe und vier Flusszellen aufweist, bei nur zwei vor der Analyse einstellbaren Wellenlängen detektiert. Die Peakerkennung im Detektor schaltet vier Fraktionssammler. Im Prinzip werden hier im wesentlichen mehrere Hochdruckflüssigchromatographiegeräte parallel eingesetzt. Das ist nachteiligerweise unökonomisch.

Eine wesentliche Steigerung der Zahl der Förderlinien ist erreichbar, wenn mehrere Kanäle im Parallelbetrieb von einer einzigen konstant fördernden Pumpe (bzw. Pumpensystem) versorgt werden und eine seitens des Anwenders vorgegebene Flussverteilung entsteht.

Ein einfache, unregelmäßige Parallelschaltung mehrerer Trennsäulen, die durch eine einzige Pumpe versorgt werden, führt jedoch aufgrund der unterschiedlichen Strömungsverhältnisse in den einzelnen Säulen zu einer
5 Flussverteilung, die nur sehr schwer vorhersehbar ist. Jede Säule muß vor Inbetriebnahme strömungstechnisch vermessen werden und einen Strömungswiderstandskennwert erhalten.

Analog zu einem parallelen Widerstandsnetzwerk in der Elektrotechnik würde man mit einem solchen Kennwert
10 auch hier eine entsprechende Verteilung des Volumensstromes erwarten können. Dieses Verfahren der Flusseinstellung im parallelen Betrieb ist in der Praxis unbrauchbar, da es keinerlei zeitliche Veränderungen
15 (z.B. Alterungs- u. Verstopfungsprozesse im Säulenmaterial) berücksichtigt.

In DE 195 45 423 A1 ist eine Vorrichtung beschrieben, mit der bis zu zweiundsiebzig parallele Trennungen möglich sein sollen. Die Vorrichtung basiert auf zwei miteinander verbundenen kreis- und scheibenförmigen Trennphasen. Der Strom der mobilen Phase kehrt sich bei dieser Vorrichtung um. Für parallele Messungen sollen diese
20 Scheiben mit undurchlässigen Trennwänden versehen sein. Die Detektion soll in einem nicht näher beschriebenen Vielkanaldetektor erfolgen. Die Trennphase wird über zwei Pumpen und einem Ventilbaum mit mobiler Phase und Proben versorgt. Diese Vorrichtung weist zwei kritische Punkte auf:
25

- Es wird nicht näher beschrieben, wie die Flüsse in den verschiedenen Kanälen bei parallelem Betrieb der Trennsäulen geregelt werden sollen. Verstopft beispielsweise ein Kanal, so würde sich in der darge-

stellten Vorrichtung ohne Regelung automatisch der Fluss in den anderen Kanälen erhöhen.

- Ebenso ist es fraglich, ob sich die Trennwände auf den Scheiben bei höheren Drücken noch als dicht erweisen. Eine Vermischung verschiedener Proben kann deshalb hier nicht ausgeschlossen werden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung unter Druck anzubieten, mit denen eine parallele Auftrennung und Detektion sowie eine Aufreinigung, wenn erforderlich, von mindestens mehreren Proben möglich ist, wobei die Vorrichtung eine kompakte, kostensparende Konstruktion aufweisen soll.

Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit den kennzeichnenden Teilen der Ansprüche 1 und 6.

Vorteilhafte Weiterbildungen sind in den Unteransprüchen aufgeführt.

Die Erfindung weist verschiedene Vorteile auf. Pro Zeiteinheit können bedeutend mehr Proben parallel getrennt, analysiert und aufgereinigt werden. In der gleichen Zeit, in der eine herkömmliche Hochdruckflüssigchromatographieanlage nur eine Probe oder eine der oben beschriebenen Parallelchromatographievorrichtungen vier Proben auftrennen, kann die erfindungsgemäße Vorrichtung fünf oder bedeutend mehr Proben auftrennen, analysieren und aufreinigen. Vorteilhafterweise ist bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung jede Trennungslinie einschließlich der Trennsäulen physikalisch von der anderen getrennt, so daß eine Vermischung der Proben nicht stattfinden kann. Für den Betrieb mit Niederdruckgradient werden selbst bei einem Parallelbetrieb von wesentlich mehr als fünf Trennsäulen nur eine Pumpe

oder für den Hochdruckgradienten maximal zwei Pumpen und für das Betreiben der Festphasenextraktionseinheit ebenfalls nur zwei Pumpen benötigt. Dies spart Raum und Kosten. Da für die Probeninjektion Mehrwegventile parallel geschaltet werden, wird nur eine Ventilsteuerung benötigt. Eine solche parallel betriebene Chromatographievorrichtung kann günstigerweise mit einem einzelnen Multikanaldetektor, anstelle von vielen einzelnen Detektoren ausgestattet werden. Schließlich sind die Chromatogramme der einzelnen Trennungslinien durch den Einbau einer kalibrierbaren Flussregelung absolut miteinander vergleichbar.

Die Erfindung wird anhand von Zeichnungen und Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Es zeigen

Fig. 1A ein Ablaufschema mit acht Trennungslinien sowie einer Anordnungsvariante der Flussregelungseinheit,

Fig. 1B ein Ablaufschema mit einer weiteren Anordnungsvariante der Flussregelungseinheit,

Fig. 2 ein Diagramm zur Wirkungsweise der Flussregelung und

Fig. 3 eine schematische perspektivische Darstellung der Vorrichtung mit 96 Trennungslinien,

Fig. 4 eine schematische Darstellung der Vorrichtung mit zehn Festphasenextraktionseinheiten, die je sechs Fraktioniersäulen aufweisen und

Fig. 5 eine schematische Darstellung der Vorrichtung mit zwei Fraktioniersäulen für jede Festphasenextraktionseinheit.

Die zu trennenden Proben befinden sich in Probengefä-
ßen. Gemäß einer bevorzugten Ausführung der Erfindung
sind dies beispielsweise Mikrotiterplatten 15 in
5 Fig. 3. Mittels eines multiparallelen Probeaufnahmesy-
stemes 5, das beispielsweise als Autosampler ausgebil-
det sein kann, werden gleichzeitig acht Proben aufge-
nommen und dem Injektionssystem 18 zugeführt, das aus
Injektionsports 6, Injektionsventilen 9 und Proben-
10 schleifen 7 besteht (Fig. 1A, 1B). Überflüssiges Pro-
benmaterial gelangt durch die entsprechende Stellung
des Injektionsventils 9 in den Probenabfall 8. Sind al-
le acht Probeaufgabenbeschleifen 7.1 - 7.8 befüllt, werden
alle Injektionsventile 9.1 - 9.8 gleichzeitig geschal-
15 tet und auf diese Weise die mit Proben gefüllten Pro-
bensschleifen 7.1 - 7.8 mit den Trennsäulen 11.1 - 11.8
verbunden, so daß die Proben parallel und gleichzeitig
auf die Trennsäulen 11.1 - 11.8 aufgegeben werden. Die
Trennsäulen 11.1 - 11.8 sind in einer Trennsäulenbatte-
20 rie 11 kompakt angeordnet.

Über die Ventile 1.1 - 1.4 und 2.1 - 2.4 und die Pum-
pen 3 und 4 wird die mobile Phase über einen Drucksen-
sor 19, der Teil der Flussregelungseinheit ist, in die
25 einzelnen Trennungslinien 17.1 - 17.8 gefördert. Es
kann sowohl ein Niederdruck- als auch ein Hochdruckgra-
dient gefahren werden. Im Falle der Niederdruckvariante
wird der Gradient in einer Mischkammer erzeugt und mit
einer einzigen Pumpe gefördert. Bei Hochdruckgradien-
tenbetrieb (vergl. Fig. 3) werden die Flußmittel
30 mittels zweier Pumpen 3 und 4 auf der Hochdruckseite
zusammengeführt. Die von den Pumpen 3 und / oder 4 ge-
förderte mobile Phase fließt über die Verteilung 20 zum
Flussregler 10 und transportiert die Proben gemäß Fig.
35 1A von den Probeaufgabenbeschleifen 7 auf die jeweilige

Trennsäule 11. In den Trennsäulen 11.1 - 11.8 werden auf an sich bekannte Weise die Komponenten der Proben aufgetrennt.

5 Nach erfolgter Trennung werden die Komponenten in einen Multikanaldetektor 13 geführt. Der Multikanaldetektor 13 kann auf dem Prinzip an sich bekannter Detektionsverfahren, wie z. B. der Ultraviolettabsorption, der Fluoreszenzspektroskopie, der Lichtstreuung oder
10 der Massendetektion basieren. Für jede der acht Proben nimmt der Multikanaldetektor 13 ein eigenes Chromatogramm bzw. Spektrum auf.

15 Dient die erfindungsgemäße Vorrichtung ausschließlich der analytischen Bestimmung, so werden anschließend die Probenreste und die mobile Phase in einen Abfall 14 überführt.

20 Bei einer präparativen oder semipräparativen Arbeitsweise werden die Proben nach der Trennung gesammelt und weiterverwendet. Dann wird anstelle des Abfalls 14 ein multiparalleler Fraktionssammler 24 installiert. In diesem Fall steuert ein zerstörungsfrei arbeitender Detektor, (z.B. ein multiparalleler Ultraviolettabsorptionsdetektor 13 mit Peakerkennung) den Fraktionssammler,
25 der die aufgereinigten Komponenten sammelt. Vor dem Fraktionssammler 24 kann zur Aufreinigung der Fraktionen und Überführung der Fraktionen in ein organisches Lösungsmittel eine Festphasenextraktionseinheit 23 installiert sein (s. Fig. 4, 5).
30

35 Vor allem bei analytischer Zielstellung ist häufig eine exakte Vergleichbarkeit der Chromatogramme zur eindeutigen Identifikation von getrennten Substanzen anhand der Retentionszeiten im Chromatogramm notwendig.

Für diesen Anwendungsfall ist eine Flussregelung unabdingbar.

Die Flussregelungseinheit besteht aus dem Gesamtdrucksensor 19, dem Flussregler 10 und dem Flussmesser 12. In Fig. 1A sind in jeder parallelen Trennungslinie 17.1 - 17.8 Flussregler 10 vor dem Injektionsventil 9 vorgesehen. Flussmesser 12 sind hier beispielhaft nach dem Detektor 13 angeordnet. Der erforderliche Gesamtdruckmesser 19 befindet sich zwischen den Pumpen 3, 4 und der Verteilung 20 auf die einzelnen Trennlinien.

In Fig. 1B ist eine andere beispielhafte Anordnung vorgesehen, in der die Teile Flussregler 10 und Flußmesser 12 der Flussregelungseinheit kompakt vor den Injektionsventil 9 eingefügt sind .

Ein gleicher Fluss in allen Trennsäulen 11.1 - 11.8 garantiert jedoch noch nicht die Ähnlichkeit von Chromatogrammen gleicher Proben. Geringe Unterschiede in der Art der Befüllung der Trennsäulen 11.1 - 11.8 mit stationärem Phasenmaterial, die z.B. auf unterschiedliche Füllhöhe oder Packungsdichte zurückzuführen sind, können zu unterschiedlichen Retentionszeiten für ein- und dieselbe Substanz führen. Da die Flüsse in den einzelnen parallelen Trennlinien 17.1 - 17.8 einzeln regelbar sind, können sie vorteilhafterweise und erfindungsgemäß so eingestellt werden, daß sie die geringen Unterschiede in den Trennsäulen 11.1 - 11.8 ausgleichen. Die Einstellung erfolgt so, daß eine Kalibrierkomponente auf alle Trennsäulen 11.1 - 11.8 aufgegeben wird. Die Messung der unterschiedlichen Retentionszeiten erfolgt über einen Detektor. Nach Messung der Retentionszeiten wird der Fluss für die einzelnen Trennungslinien 17.1 - 17.8 so berechnet und nachgeregelt,

daß sich für die Kalibrierkomponente in allen Trennungslinien 17.1 - 17.8 die gleichen Retentionszeiten ergeben.

5 Die beiden Verfahren zur Einstellung eines für den An-
gleich von Retentionszeiten erforderlichen und vorher
berechneten Flusses, ist nachfolgend näher erläutert.

Verfahren 1 (mit druckgeregelter Fördereinheit) :

10

Die Flussmesser 12.1 bis 12.8 ermitteln für die jewei-
lige Trennlinie 17 den Wert des aktuellen Volumen-
stroms. Der Flussregler 10 vergleicht diesen Istwert
mit einem von der Auswerte- u. Steuereinheit 16 vorge-
gebenen Sollwert und regelt mit der berechneten Regel-
15 differenz direkt den erforderlichen Volumenstrom für
die jeweiligen Trennlinie 17.1 bis 17.8 ein. Neben der
Sollwertvorgabe überwacht die Auswerteeinheit (16) auch
die Reglerparameter.

20

Diese Vorgehensweise zur Einregelung der Volumenströme
bei Parallelbetrieb von Trennsäulen ist bei einer Ver-
sorgung mit druckgeregelten HPLC- Pumpen möglich. Diese
Versorgung mit mobiler Phase wird selten eingesetzt.
25 Die Schwierigkeit in der Auswahl eines geeigneten Vor-
druckes, der abhängig von der nachfolgenden Säulenbat-
terie ist, macht sich hierbei bemerkbar.

In der Hochdruckflüssigchromatographie werden i. A.
30 Pumpen mit konstanter Volumenstromförderung eingesetzt.

Hierzu Verfahren 2 (mit volumenstromgeregelter För-
dereinheit) :

Die Einregelung der Volumenströme erfolgt bei Konstant-
volumenstromversorgung nach einem speziellen Verfahren.
Das o. g. Verfahren erlaubt das Einregeln der parallelen
Volumenströme ohne eine gegenseitige Beeinflussung der
Trennungslinien über den Gesamtdruck. Außerdem wird
hierbei der Gesamtvolumenstrom vollständig auf die ein-
zelnen Trennlinien verteilt. Die Volumenstromwerte wer-
den von Flussmessern in den einzelnen Trennungslinien
17.1 - 17.8 erfaßt. Ein Gesamtdruckmesser 19 ermittelt
den Druck ausgangsseitig der Pumpen 3 und 4. Das Ergeb-
nis einer Quotientenbildung aus Gesamtdruck und aktuel-
lem Volumenstromwert in der jeweiligen Trennlinie
stellt für den Flussregler einen Istwert dar. Der
Flussregler (z.B. Reglereinheit mit Ventil) 10 ver-
gleicht diesen Istwert mit einem von der Auswerte- u.
Steuereinheit 16 vorgegebenen Sollwert und regelt mit
der berechneten Regeldifferenz somit indirekt den Volu-
mentrom für die jeweilige Trennlinie 17.1 bis 17.8 ein.
In einer bevorzugten Ausführung der Erfindung wird der
Volumenstrom indirekt über den Druckabfall (Differenz-
druck) an einer Meßkapillare ermittelt.

In Fig. 2 ist der Einregelungsprozeß für 4 parallele
HPLC-Trennungslinien 17.1 bis 17.4 in einem Diagramm
veranschaulicht. Nach dem Start der HPLC-Pumpen 3 und 4
stellt sich in jeder der vier Trennungslinien 17.1 bis
17.4 ein anderer Volumenstrom ein. Nach Einschalten der
Flussregelung und Voreinstellung eines gemeinsamen
Sollwertes herrscht nach einer kurzen Einschwingphase
ein gleicher Volumenstroms in den Trennungslinien 17.1
bis 17.4.

Zur Angleichung der Retentionszeiten wird eine geeigne-
te Standardsubstanz gleichzeitig in alle Trennungslini-
en 17 injiziert und die Retentionszeit mit Hilfe des

Multikanaldetektors 13) erfaßt. Über einen speziellen Algorithmus errechnet die Auswerte- u. Steuereinheit 16 daraus die nötigen Sollwerte und gibt diese an die Flussregelungseinheit weiter. Die Retentionszeiten der Standardsubstanz werden in regelmäßigen Abständen überprüft, um gegebenenfalls die Sollwerte nachzustellen. Vorteilhafterweise ermöglicht die Flussregelungseinheit auch eine Fehlererkennung. Über- oder unterschreitet der Stellwert des Flussreglers in einer Trennlinie 17 einen zulässigen Bereich, so wird sofort ein Systemfehler (z.B. verstopfte Säule bzw. Kapillare, Leck) erkannt und die betreffende Trennungslinie 17 wird herausgeschaltet. Die Auswerteeinheit 16 signalisiert eine entsprechende Fehlermeldung.

Die in Fig. 3 in der Perspektive dargestellte Schematik der Vorrichtung zeigt eine auf sechsundneunzig Chromatographiekanäle erweiterte Vorrichtung. Das multiparallele Probenaufnahmesystem 5 ermöglicht hier die gleichzeitige Aufnahme von 96 Proben.

Für semipräparative und präparative Anwendungen wird an die Chromatographiekanäle eine multiparallele Festphasenextraktionseinheit 23 und eine multiparallele Fraktionssammler gemäß Fig. 4 und 5 gekoppelt.

Gemäß Fig. 4 werden auf an sich bekannte Weise mittels eines multiparallelen Probeaufnahmesystemes 5, das beispielsweise als Autosampler ausgebildet sein kann, zehn Proben aufgenommen und den Trennsäulen 11.1 bis 11.10 zugeführt. Über ein Pumpsystem, bestehend aus den Pumpen 3 und 4 wird ein Lösungsmittelgemisch über einen Verteiler auf die hier dargestellten zehn Trennlinien 17.1 bis 17.10 gefördert. Zur Sicherstellung von gleichen Flüssen in allen Trennlinien 17.1 bis 17.10 sind

Flußregelungseinheiten, bestehend aus den Ventilen 10 und den Flußmessern 12 und, hier nicht dargestellt, ein Druckmesser 19 sowie ein entsprechender Rechner mit Flußregelungsprogramm angeordnet. Das Lösungsmittelgemisch wird in jeder Trennlinie 17.1 bis 17.10 über das Probenaufnahmesystem 5 geführt. Anschließend werden die Proben weiter zu den Trennsäulen 11.1 bis 11.10 zu einem parallelen Multikanal-detektor 13 geführt. Über eine Pumpe 21 wird auf allen Trennlinien 17.1 bis 17.10 Wasser zugeführt, um die Polarität des Gemisches zu erhöhen und somit die Extraktion der Probenkomponenten auf der sich anschließenden Festphasenextraktionseinheit 23 zu ermöglichen. Die Festphasenextraktionseinheit 23 enthält hier pro Trennlinie 17.1 bis 17.10 sechs Fraktioniersäulen.

In der Variante gemäß Fig. 5 sind in jeder der Trennlinien 17.1 bis 17.10 zwei Fraktioniersäulen in Kombination mit einem 10-Port-2-Positionsventil vorgesehen. Die Pumpe 22 dient zur Equilibrierung der Festphasenextraktionseinheit 23 zum Reinigen der Proben und schließlich zur Überführung der Proben in den Fraktionssammler 24.

Bezugszeichenliste

1.1 - 1.4	Ventil	11.1 - 11.10	Trennsäulen
	Laufmittel		
	Vorrat A	12	Flussmesser
2.1 - 2.4	Ventil	13	Detektor
	Laufmittel		
	Vorrat B	14	Abfall
3	Pumpe	15	Mikrotiterplatte
4	Pumpe	16	Auswerte- u. Steuereinheit
5	Probenaufnahme- system	17.1 -17.10	Trennungslinien
6	Injektionsport	18	Injektionssystem
7	Probenschleife	19	Gesamt- druckmesser
7.1-7.8	Probenschleifen	20	Verteiler
8	Probenabfall		
9	Injektionsventil	21	Pumpe
9.1-9.8	Injektionsventile	22	Pumpe
10	Flussregler	23	Festphasenex- traktionseinheit (23.1-23.10
11	Trennsäulen- batterie	24	Fraktionssammler

Patentansprüche

- 5 1. Vorrichtung zur flüssigchromatographischen Trennung
von Substanzen unter Druck,
dadurch gekennzeichnet,
daß mindestens mehrere parallel verlaufend angeord-
nete flüssigchromatographische Trennungslinien (17)
10 von einer einzigen Fördereinheit (eine oder zwei
Pumpen) versorgt werden und im Bereich der Proben-
zuführung mit einem Probenaufgabensystem (5) und
einem Injektionssystem (18) sowie im Detektionsbe-
reich mit einem Detektor (13), verbunden mit einer
15 Auswerte- u. Steuereinheit (16), kombiniert sind.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
daß die flüssigchromatographischen Trennungslinien
20 (17) Flussregelungseinheiten (10, 12, 12.1, 19) auf-
weisen.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,
25 daß die Flussregelungseinheiten (10, 12, 19) aus
Flussreglern (10), einem Gesamtdruckmesser (19) und
Flussmessern (12) besteht.
4. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 3,
30 dadurch gekennzeichnet,

daß die Flußregelungseinheiten (10,12,19) in jeder Trennungslinie (17) soft- und/oder hardwaremäßig steuerbar sind.

5 5. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
daß Flussregler (10) und Flussmesser (12) in einer
Trennungslinie (17) an verschiedenen Orten angeord-
net sind.

10 6. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,
daß Flussregler (10) und Flussmesser (12) in den
Trennungslinien (17) kompakt an einem Ort angeord-
15 net sind.

7. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet,
20 daß die Flussregelungseinheit (10,12,19) vor
oder hinter den Trennsäulen (11.1 - 11.8) angeord-
net ist.

8. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,
25 daß der Gesamtdruckmesser (19) ausgangsseitig den
Pumpen (3, 4) angeordnet ist.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
dadurch gekennzeichnet,

daß das Probenaufnahmesystem (5) mit mindestens mehreren parallelen Probeaufnahme­linien über mindestens mehrere Injektionsports (6) und

Injektionsventile (9) und Probenschleifen (7) des
5 multiparallelen Injektionssystems (18) mit mindestens mehreren Trennsäulen (11.1 - 11.8) verbunden sind, die mit einem Detektor (13) gekoppelt sind, der mindestens mehrere Bestimmungskanäle aufweist.

10 10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Trennsäulen (11.1 - 11.8) zu einer Trennsäulenbatterie (11) kompakt vereinigt sind.

15 11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10,

dadurch gekennzeichnet,

daß jedes Injektionsventil (9) vor den Trennsäulen (11.1 - 11.8) angeordnet ist.

20 12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11,

dadurch gekennzeichnet,

daß jedes Injektionsventil (9) als Mehrwegventil ausgebildet ist.

25 13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12,

dadurch gekennzeichnet,

daß jedes Injektionsventil (9.1-9.8) Schaltmöglichkeiten zu einem Injektionsport (6), zu einer Probenschleife (7), zu den Pumpen (3, 4), zu einem Abfall (8) und zu einer Trennsäule (11.1 - 11.8) aufweist.
30

14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13

dadurch gekennzeichnet,

daß die Trennungslinien (17.1-17.10) eine Trennsäule und eine Festphasenextraktionseinheit (13) aufweisen, die mit weiteren Pumpen (21, 22) gekoppelt ist.

15. Vorrichtung nach Anspruch 14 oder 15,

dadurch gekennzeichnet,

daß die flüssigchromatographischen Trennungslinien (17.1-17.10) Flussregelungseinheiten (10, 12, 19) aufweisen.

16. Vorrichtung nach Anspruch 14 oder 15,

dadurch gekennzeichnet, daß

im Endbereich der Festphasenextraktionseinheit (23) ein mit der Festphasenextraktionseinheit (23), der multiparallelen Fraktionsausgabeeinheit (24) und dem Abfall (14) eine Verbindung herstellbares Mehr-Wege-Ventil angeordnet ist.

17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 14 bis 16,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Festphasenextraktionseinheiten (23) mindestens je zwei Fraktioniersäulen aufweisen.

18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 14 bis 17,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Festphasenextraktionseinheiten (23) je zwischen 10 und 50 Fraktioniersäulen aufweisen.

19. Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung
von Substanzen unter Druck,

dadurch gekennzeichnet,

5 daß mehrere zu trennende Proben gleichzeitig mindestens mehreren Trennsäulen (11) zugeführt werden und anschließend gleichzeitig und parallel eine Detektion und Auswahl erfolgt.

10 20. Verfahren nach Anspruch 19,

dadurch gekennzeichnet,

15 daß die Trennungslinien (17) bezüglich der Retentionszeiten mittels einer Kalibrierprobe kalibriert werden und nach Ermittlung der einzelnen Retentionszeiten durch Steuerung von Flussreglern (10) aufgrund von Daten von Flussmessern (12) und Ausgangsdruckmesser (19) für alle Proben die gleiche Retentionszeit eingestellt wird.

20 21. Verfahren nach Anspruch 20,

dadurch gekennzeichnet,

25 daß der Quotient aus Gesamtdruck und Volumenstrom der jeweiligen Trennlinie als Istwert für eine indirekte Regelung des Volumenstromes herangezogen wird.



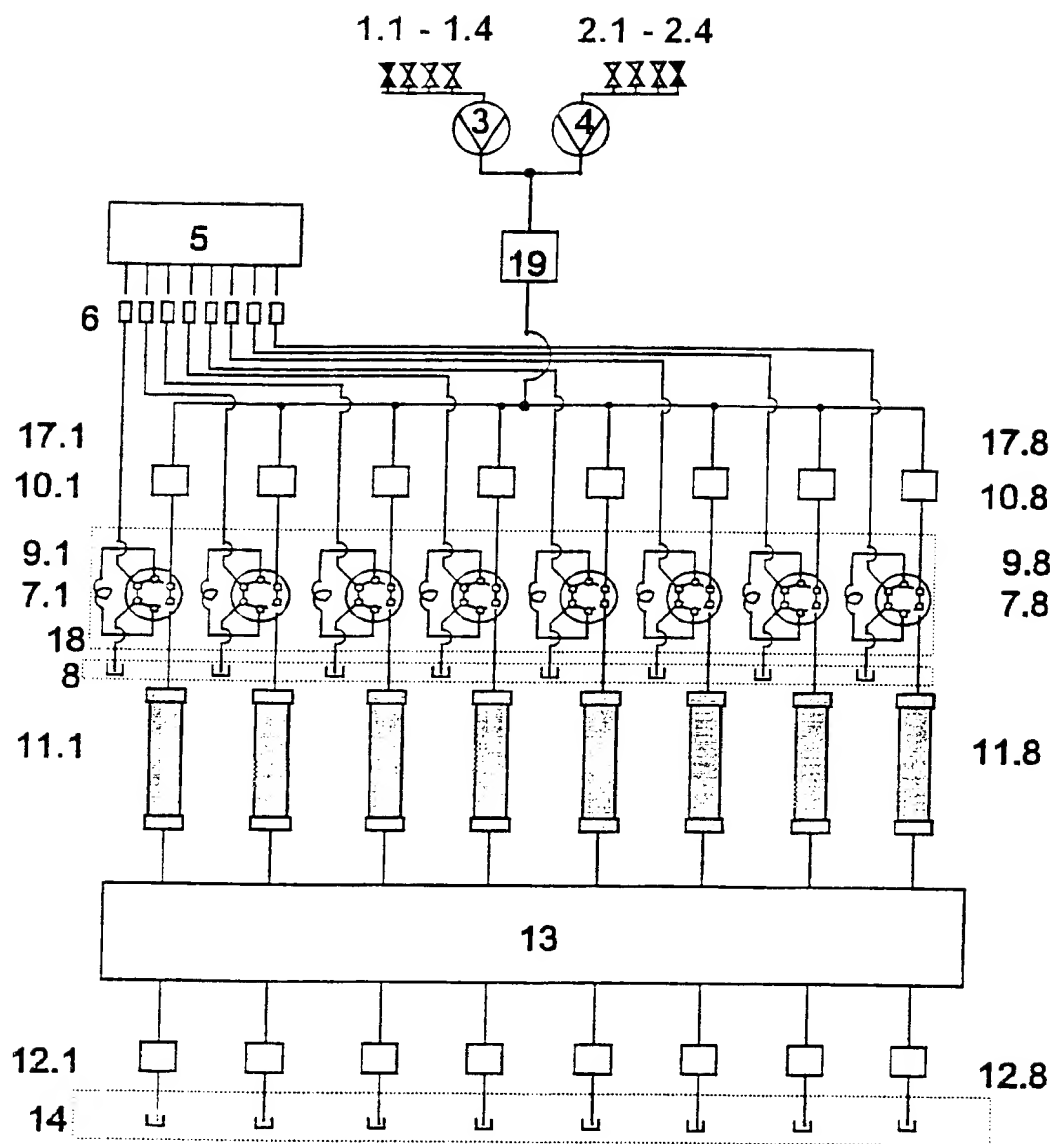


Fig. 1A



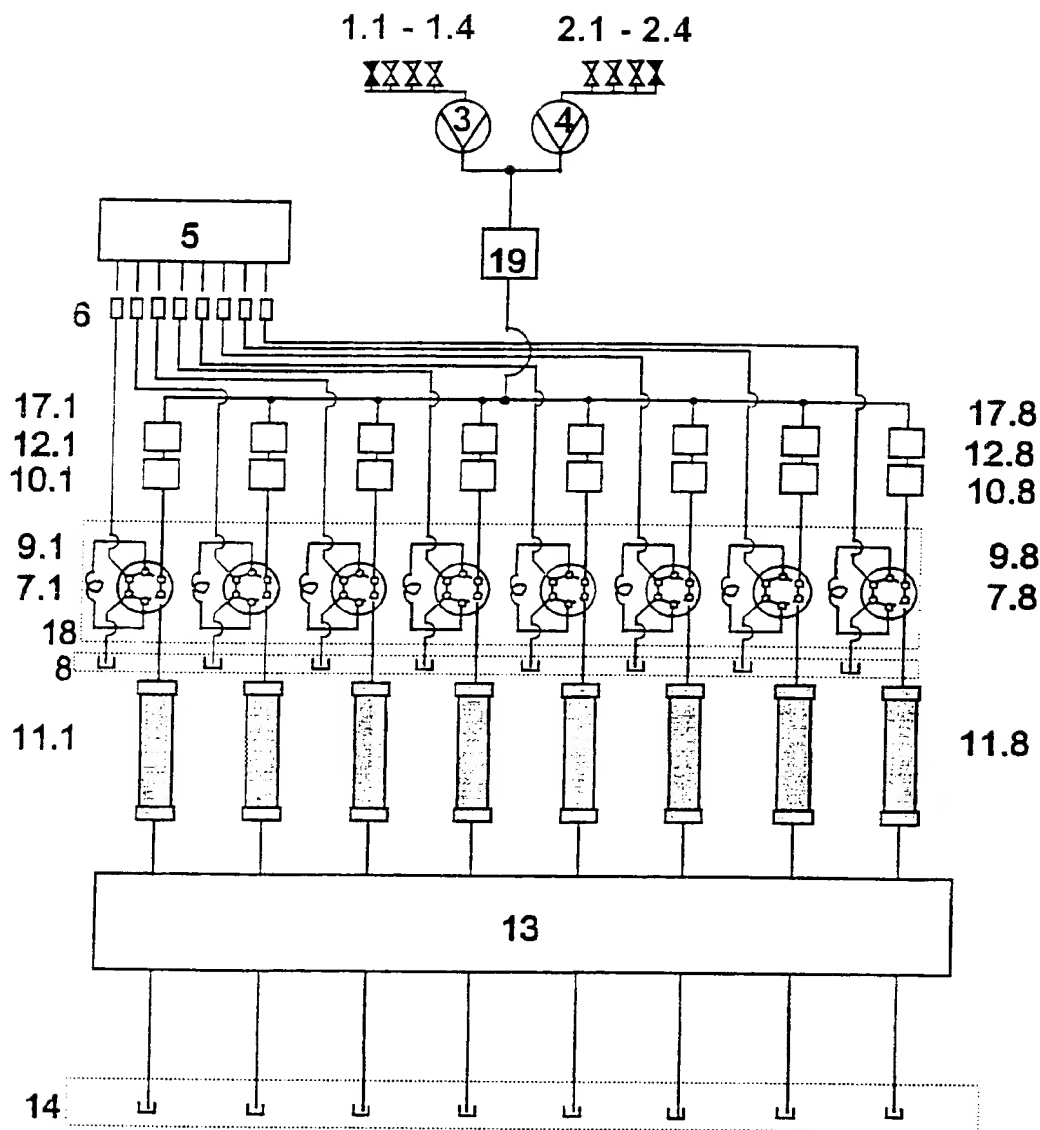


Fig. 1B



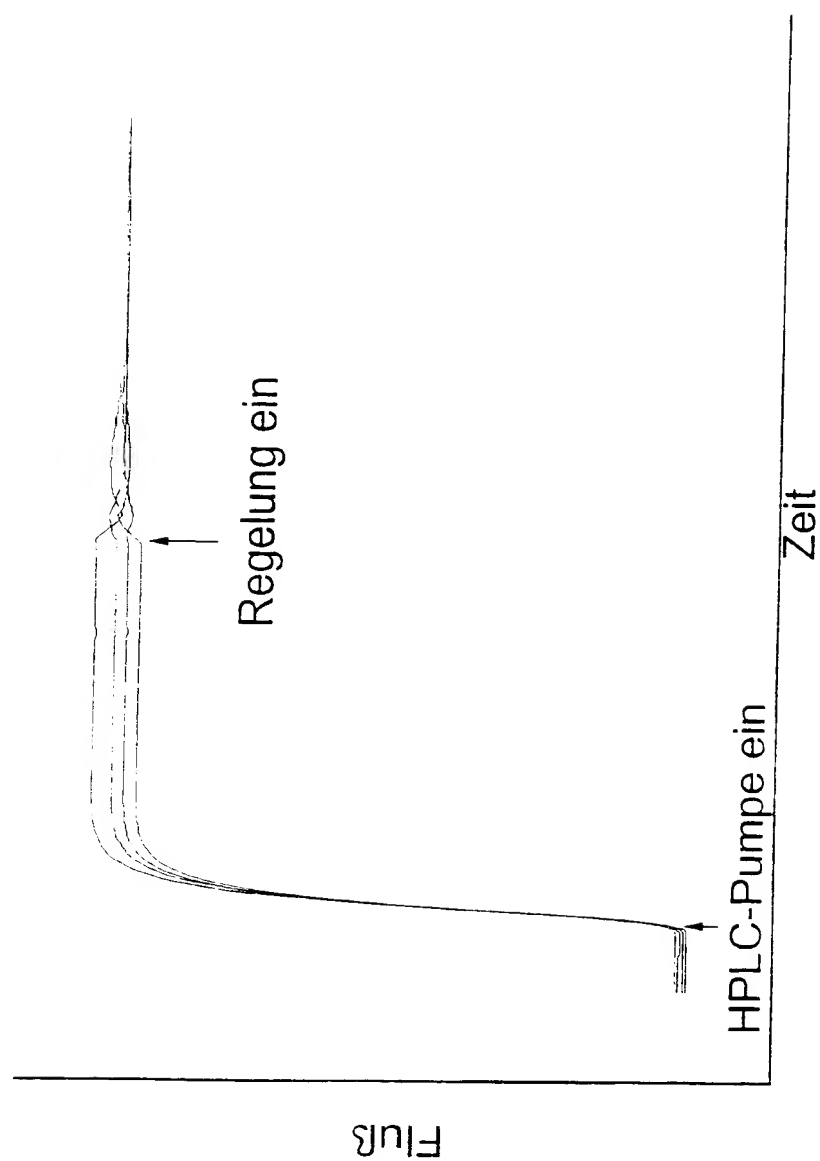


Fig. 2



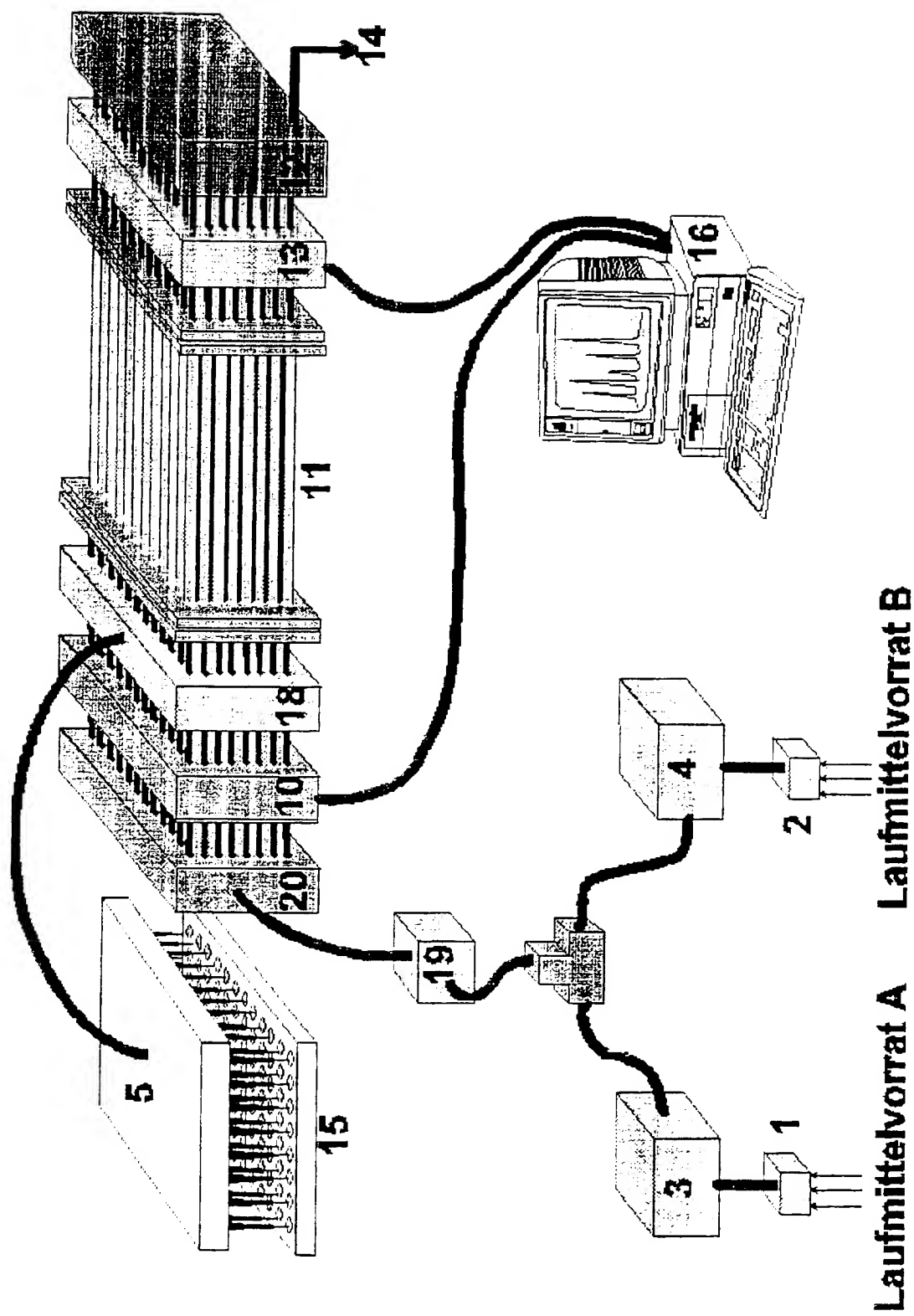


Fig. 3



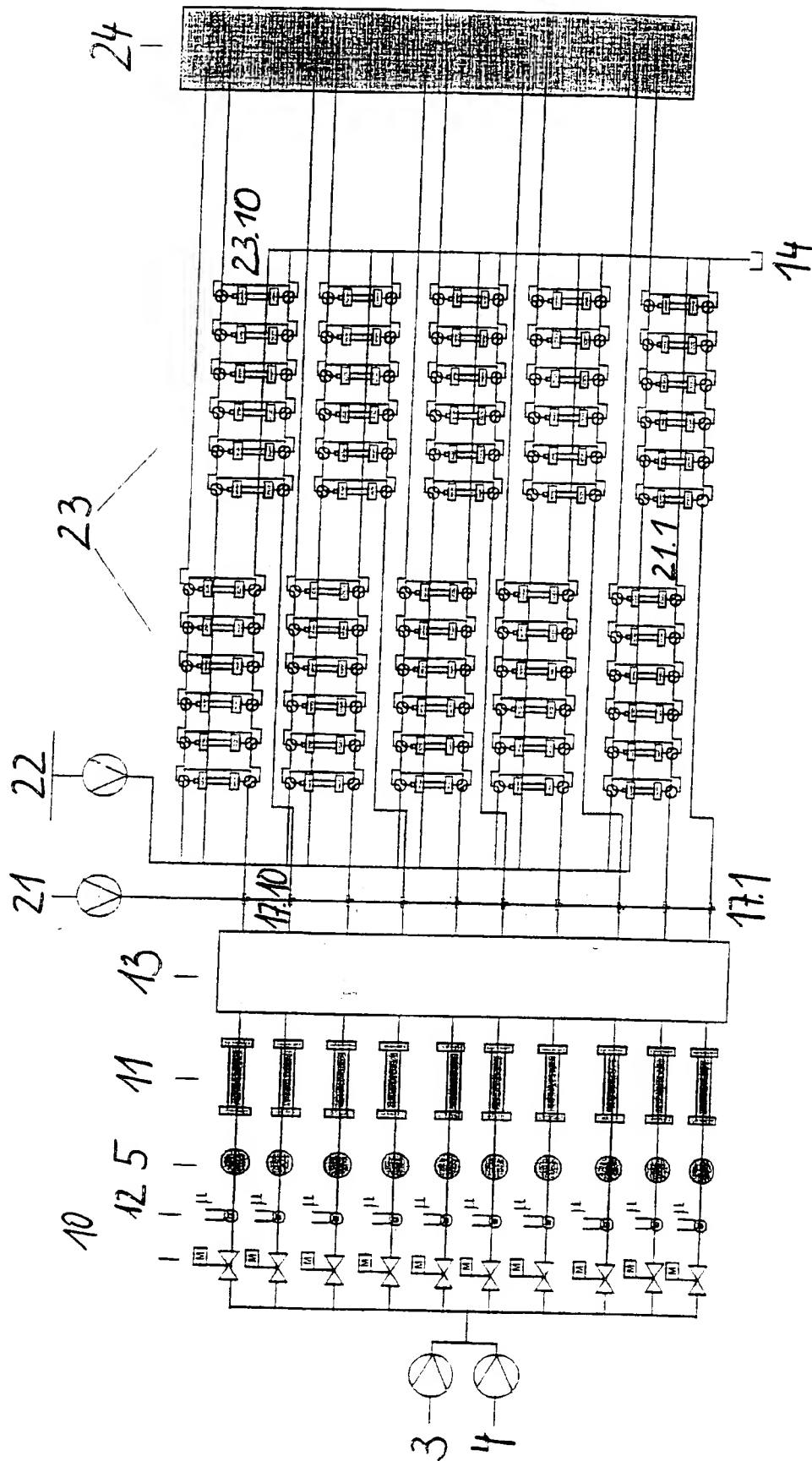


Fig. 4



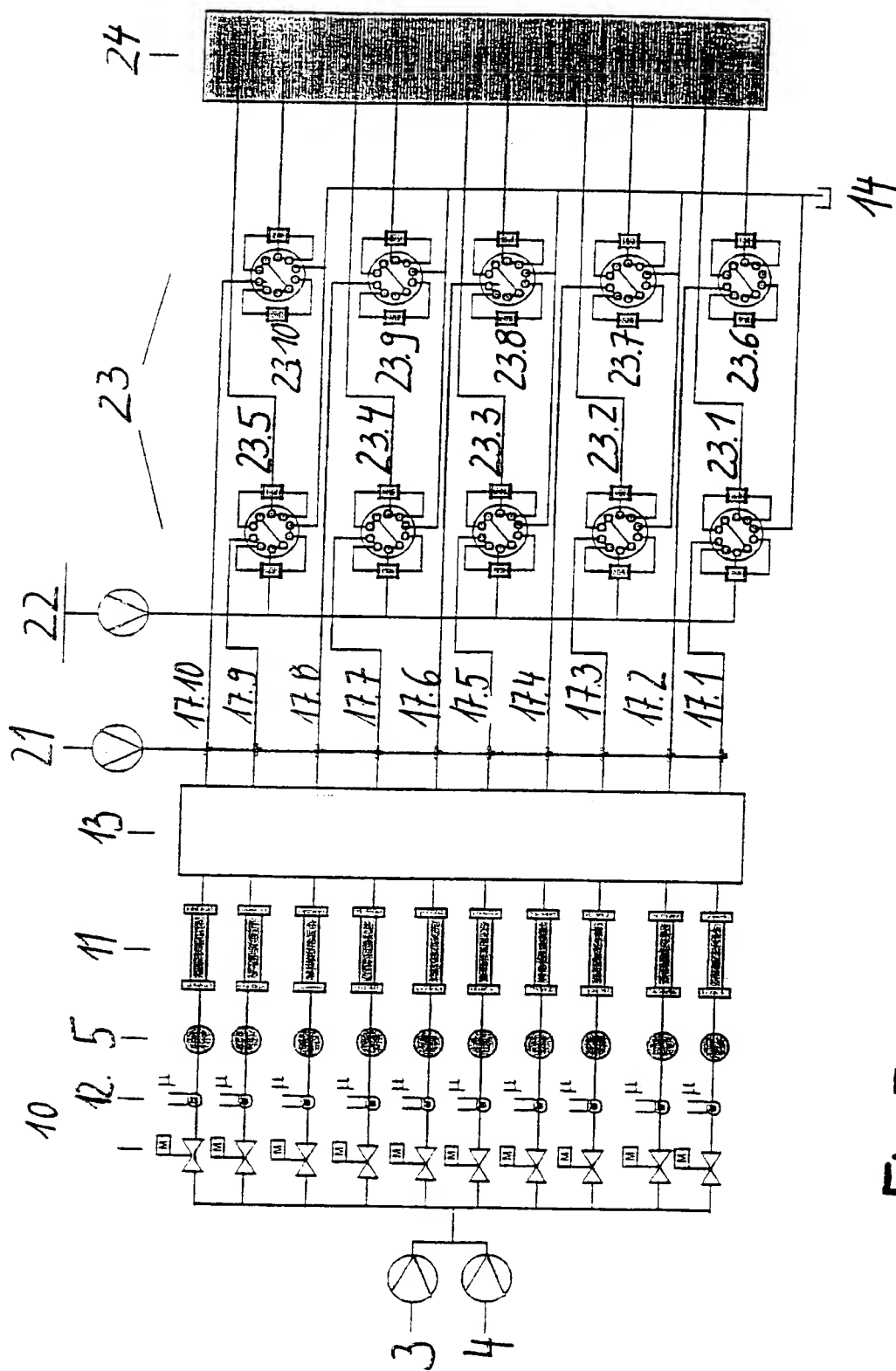


Fig. 5

